
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Contribution à l'étude de *Trypanosoma congolense*

PAR M. A. LAVERAN

En 1904, A. Broden a appelé l'attention sur un trypanosome qu'il avait trouvé chez un âne et chez des moutons provenant du poste de Galiema (État indépendant du Congo). Broden a pensé que ce trypanosome, remarquable par ses petites dimensions et par l'absence d'une partie libre du flagelle, appartenait à une espèce nouvelle qu'il a désignée sous le nom de *Tr. congolense* (1).

Ultérieurement, Broden a retrouvé ce trypanosome chez des bovidés et chez des dromadaires de l'État indépendant du Congo, et il a fait ressortir les analogies existant entre *Tr. congolense* et *Tr. dimorphon*, sans conclure toutefois à l'identité de ces parasites (2).

Rodhain, qui a donné une description du petit trypanosome du Congo, constate que l'absence de partie libre du flagelle rapproche ce trypanosome de *Tr. dimorphon* (3).

Dutton, Todd et Kinghorn, qui ont étudié dans l'État indépendant du Congo la trypanosomiase produite par *Tr. congolense*, signalent les analogies de ce trypanosome avec *Tr. dimor-*

(1) A. BRODEN, Les infections à trypanosomes au Congo, *Bulletin de la Société d'études coloniales*, Bruxelles, février 1904.

(2) A. BRODEN, *Rapport sur les travaux du Laboratoire médical de Léopoldville de 1900 à 1905*, Bruxelles, 1906, p. 178. — A. BRODEN, Trypanosomiasés animales au Congo, *Bulletin Acad. R. de Belgique*, t. XX, 1906, p. 387.

(3) RODHAIN, Trypanosomiasés humaines et animales dans l'Ubangi, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hygiene*, t. XI, mai 1907, p. 297. Voyez aussi MEULEMAN, *Rapport sur les maladies tropicales des animaux domestiques, Publication de l'Etat indép. du Congo*, Bruxelles, 1907, et F. HÖHNEL, Ueber *Trypanosoma congolense*, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hygiene*, cahier supplém., 3 juin 1908.

phon; mais ils ne citent aucune expérience permettant de conclure soit à l'identité, soit à la non-identité des deux parasites (1).

G. Martin, Lebœuf et Roubaud disent avoir rencontré souvent au Congo français des infections dues au *Tr. congolense* chez des bœufs, des moutons, des chèvres et des chiens (2).

A la fin du mois d'octobre 1906, le Dr Broden a bien voulu m'envoyer un cobaye qui avait été inoculé avec *Tr. congolense*; c'est ainsi que j'ai pu étudier ce trypanosome que j'ai conservé au moyen de passages par cobayes.

I. DESCRIPTION DU *Trypanosoma congolense*.

Dans le sang frais, le trypanosome a des mouvements très vifs, mais il se déplace peu dans le champ du microscope. On distingue parfois, dans le protoplasme, des granulations très réfringentes.

Les trypanosomes s'agglutinent souvent autour des leucocytes auxquels ils adhèrent par leur extrémité antérieure (fig. I).



Figure I. 1, un leucocyte polynucléaire auquel adhèrent 7 trypanosomes qui sont fixés par leur extrémité antérieure. — 2, 3, 4, 5 différents aspects de *Tr. congolense* à l'état libre. — a, a', hématies nucléées. — Sang de rat fixé et coloré. Gross. 1400 D environ.

Sur les préparations de sang desséché, fixé et coloré par mon procédé ou à l'aide de la solution de Giemsa, on distingue les particularités suivantes.

(1) J.-E. DUTTON, J.-L. TODD et A. KINGHORN, Cattle trypanosomiasis in the Congo free State, *Annals of trop. med. a. parasitology*, juin 1907, t. I, n° 2.

(2) G. MARTIN, LEBŒUF et ROUBAUD, les trypanosomiasis animales au Congo français, *Société de pathologie exotique*, 10 juin 1908.

Les trypanosomes sont petits, ils mesurent en général de 10 à 13 μ de long, sur 1 à 2 μ de large; les plus grandes formes atteignent 15 à 17 μ de long.

Le corps est moins flexueux que ne l'est celui des trypanosomes en général (Fig. II, 1, 2, 3, 4, 5).



Figure II. 1, 2, 3, 4, 5 différents aspects de *Tr. congolense* dans du sang de rat. — 6, un trypanosome en voie de division. — a, a', a'' hématies nucléées. Gross. 1400 D environ.

L'extrémité postérieure est conique, peu effilée, l'extrémité antérieure est effilée, sans flagelle libre, le protoplasme se prolongeant jusqu'à l'extrémité du flagelle.

Vers la partie moyenne du corps, on distingue un noyau ovalaire, bien circonscrit, qui se colore fortement.

Le centrosome, très apparent, est situé près de l'extrémité postérieure; il est en général accolé à la paroi du trypanosome comme l'a fait remarquer Broden.

Du centrosome part le flagelle qui borde la membrane ondulante et qui aboutit à l'extrémité antérieure, sans présenter de partie libre.

La membrane ondulante est étroite et peu plissée; elle ne montre en général que deux ondulations.

Le protoplasme se colore peu; il ne renferme pas d'ordinaire de granulations chromatiques.

La multiplication se fait par bipartition. Les formes, en voie de division, sont un peu plus longues et plus larges que les formes normales. Le centrosome se divise en général le premier. Le flagelle se divise ensuite à sa base (6, fig. II), puis

dans toute sa longueur; la bipartition s'achève par la division du noyau et du protoplasme.

Dans le sang d'un rat fortement infecté de *Tr. congolense* j'ai trouvé de nombreuses hématies nucléées (fig. I et II, a' , a'' , a''').

II. ÉVOLUTION DE L'INFECTION PRODUITE PAR *Tr. congolense* CHEZ DIFFÉRENTS MAMMIFÈRES.

L'infection naturelle par *Tr. congolense* a été observée principalement chez des Bovidés, mais d'autres animaux domestiques peuvent en être atteints : Dromadaires, Équidés, Ovinés, chien.

La plupart des Mammifères s'infectent quand on les inocule avec du sang contenant des *Tr. congolense*. J'ai étudié la marche de l'infection chez la souris, le rat, le cobaye, le chien, chez un *Macacus rhesus*, enfin chez la chèvre.

1^o *Evolution chez la souris.* — Toutes les expériences ont été faites sur des souris blanches.

Sur 16 souris, la durée moyenne de l'infection terminée par la mort a été de 83 jours, mais les écarts au-dessous et au-dessus de ce chiffre ont été nombreux et très grands. A côté de minimums de 18, 20 et 33 jours, on trouve des maximums de 331, 183 et 176 jours. Il arrive souvent que de deux souris inoculées le même jour, avec le même virus et dans des conditions qui paraissent identiques, l'une succombe rapidement, tandis que l'autre a une infection à marche lente, sans qu'on puisse s'expliquer les causes de cette différence.

Les observations des souris 1 et 2 et des souris 3 et 4 sont des exemples de ces variations dans la durée de la maladie chez des souris inoculées dans les mêmes conditions.

Souris 1. — Inoculée le 3 novembre 1906 sur cobaye. — 7 et 9 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 10 novembre, trypan. très rares. — 15, 17 et 19 novembre, trypan. rares. — 22 novembre, examen négatif. — 25 et 28, trypan. non rares. — 1^{er} décembre, trypan. assez nombreux. — 4, 7, 10 et 13 décembre, trypan. nombreux. La souris meurt le 14 décembre; elle pèse 22 gr. La rate, très volumineuse, pèse 12 gr. Durée : 41 jours.

Souris 2. — Inoculée le 3 novembre 1906 sur cobaye. La souris est inoculée de la même manière que la souris 1, l'évolution de la trypanosomiase est cependant beaucoup plus lente chez elle que chez la souris 1. Du 7 au 13 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 15 novembre, trypan.

rares. — 17, trypan. non rares. — 19 et 22, trypan. nombreux. — 25, assez nombreux. — 28, rares. — 1^{er} et 4 décembre, non rares. — 7, rares. — 10 au 25 décembre, non rares. La rate est énorme, facile à limiter par la palpation. — 28 et 31 décembre, trypan. nombreux. — 3 et 6 janvier 1907, trypan. non rares. — Du 9 au 31 janvier, tous les examens du sang révèlent l'existence de trypan. nombreux ou assez nombreux; anémie marquée, sang pâle, leucocytose, rate énorme. — 10 et 15 février, trypan. très nombreux; la souris est malade, poil hérissé.

La souris est trouvée morte le 17 février, elle pèse 27 gr. La rate pèse 2 gr. Durée : 406 jours.

Souris 3. — Inoculée le 10 novembre 1906. — Du 15 au 24 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 26 novembre, trypan. non rares. — 29 novembre, 2 et 5 décembre, trypan. rares. — 8 et 11 décembre, trypan. non rares. — 17, 20, 23 et 26 décembre, trypan. très nombreux qui s'agglomèrent. — La souris meurt le 27 décembre, elle pèse 17 gr.; la rate pèse 1 gr. 25. Durée : 47 jours.

Souris 4. — Inoculée le 10 novembre 1906, dans les mêmes conditions que la souris 3. — Du 15 au 21 novembre, les examens du sang sont négatifs. 24 novembre, trypan. très rares. — 26 et 29, trypan. rares. — 2 et 5 décembre, trypan. non rares. — Du 8 au 17 décembre, trypan. rares ou très rares. — Du 20 au 30 décembre, trypan. non rares. — Du 3 au 18 janvier 1907, trypan. non rares. Rate très volumineuse, facile à limiter par le palper. — Du 21 janvier au 4 février, trypan. rares ou très rares. — 10 février, trypan. non rares. — Les 9 et 27 février, les examens du sang sont négatifs. Rate énorme. — 6 et 9 mars, trypan. non rares. — 15 mars, très rares. — 23 mars, examen du sang négatif. — Du 28 mars au 12 avril, trypan. rares ou très rares. — Du 19 avril au 3 mai, trypan. non rares. — Du 11 au 28 mai, trypan. rares. — 4 juin, trypan. non rares. — 10 juin, très rares. — 26 juin, 4 et 11 juillet, trypan. non rares. — 18 juillet, examen du sang négatif. — 25 juillet, trypan. non rares. — Du 31 juillet au 23 août, trypan. rares. — Du 31 août au 7 septembre, trypan. non rares. — Du 14 au 28 septembre, trypan. très rares. — 5 octobre, trypan. non rares; la souris est malade, diarrhée. Morte le 7 octobre. La souris pèse 24 gr. et la rate 2 gr. Durée : 331 jours.

L'incubation varie de 8 à 30 jours. La multiplication des trypanosomes se fait par poussées dans l'intervalle desquelles les parasites deviennent rares ou très rares dans le sang.

La rate augmente considérablement de volume, elle forme souvent une tumeur transversale occupant toute la largeur de l'abdomen, facile à délimiter par la palpation. Il arrive que la rate, après une phase d'hypertrophie très marquée, diminue de volume (1).

(1) Une souris inoculée avec *Tr. congolense* le 4 décembre 1907 et qui, à plusieurs reprises a montré des trypanosomes nombreux avec hypersplénie très marquée, paraît guérie à la date du 30 octobre 1908. Les examens du sang sont négatifs depuis trois mois et la palpation ne décelé plus l'hypersplénie.

A la dernière période, l'anémie est très marquée, surtout dans les formes à marche lente.

Au moment de la mort, les trypanosomes sont presque toujours nombreux ou très nombreux.

Les hématies s'agglutinent rarement dans le sang des souris ou bien il s'agit d'agglutinations légères.

Le virus semble s'affaiblir par son passage chez les souris. 5 cobayes inoculés sous la peau avec le virus des souris, ne se sont pas infectés; ils n'avaient pas acquis l'immunité; inoculés sur des cobayes ou dans le péritoine avec le virus de souris ils se sont infectés.

2° *Evolution chez le rat.* — 6 rats blancs ont été inoculés avec *Tr. congolense*. La durée moyenne de la maladie qui s'est terminée dans tous les cas par la mort, a été de 19 jours; minimum : 15 jours; maximum : 29 jours. Chez le rat, l'infection produite par *Tr. congolense* est donc plus régulière et beaucoup plus rapide que chez la souris.

Les trypanosomes apparaissent dans le sang 7 à 8 jours après l'inoculation du virus sous la peau; le nombre des parasites augmente en général d'une façon régulière jusqu'au jour de la mort. A ce moment les trypanosomes sont très nombreux.

3° *Evolution chez le cobaye.* — Contrairement à ce qui arrive pour la souris, l'évolution de l'infection produite par *Tr. congolense* est très régulière chez le cobaye. Il n'est pas rare que deux cobayes inoculés en même temps meurent le même jour ou à 24 heures d'intervalle.

La durée moyenne pour 93 cobayes a été de 14 jours 76; minimum : 9 jours; maximum : 24 jours.

Le tableau suivant montre que la virulence de *Tr. congolense* a été peu influencée à la suite de nombreux passages par cobaye (1).

	jours.
4 à 5 passages. Durée moyenne.....	14,93
6 à 40 — — —	15,54
11 à 15 — — —	13,75
16 à 20 — — —	14,33
21 à 25 — — —	13,54
26 à 30 — — —	15,44
31 à 35 — — —	14,90
36 à 40 — — —	13,91

(1) A. LAVERAN, *Soc. de pathologie exotique*, 8 avril 1908.

La durée moyenne qui, pour les 5 premiers passages, avait été de 14 jours, 93 a été du 31^e au 35^e passage : 14, 90 et du 36^e du 40^e : 13, 91.

Les déchirures de la rate qui sont communes, comme nous le verrons plus loin et qui ont pour conséquence des hémorragies intrapéritonéales, abrègent souvent la durée de la maladie.

Les trypanosomes apparaissent dans le sang vers le 7^e jour après l'inoculation du virus sous la peau ; ils augmentent progressivement de nombre et, au moment de la mort, ils sont nombreux ou très nombreux. Il n'y a pas, en général, de crise trypanolytique. L'agglutination des hématies fait souvent défaut ou bien elle est légère.

L'infection se termine toujours par la mort.

4^e *Evolution chez le chien.* — La durée moyenne de la maladie chez 8 chiens a été de 34 jours ; minimum : 21 jours ; maximum : 52 jours.

Les trypanosomes apparaissent dans le sang 10 à 15 jours après l'inoculation du virus sous la peau. Tantôt les trypanosomes se multiplient d'une façon assez régulière, tantôt on observe des crises trypanolytiques.

Au moment de la mort, les trypanosomes sont en général nombreux dans le sang. L'agglutination des hématies est d'ordinaire très apparente chez les chiens infectés.

La dernière période de la maladie est caractérisée par l'amaigrissement et l'affaiblissement. Le chien devient triste ; il n'a plus la vivacité habituelle de ses mouvements ; il reste couché et, quand on le force à se lever, on constate qu'il flageole sur ses pattes ; l'affaiblissement est surtout marqué dans le train postérieur. A la période terminale, le chien se couche sur le flanc et ne peut plus se relever.

Les accidents oculaires, si communs dans les trypanosomiasés des chiens, ont fait défaut chez les 8 chiens que j'ai observés.

L'infection se termine toujours par la mort.

On trouvera ci-dessous les observations de deux chiens qui infectés par *Tr. congolense*, sont morts le premier en 40 jours, le deuxième en 24 jours.

1° Un chien est inoculé de *Tr. congolense* le 15 novembre 1906; l'inoculation est faite sous la peau. Du 21 au 27 novembre, les examens du sang sont négatifs. — 30 novembre, trypanosomes rares. — 3 décembre, examen négatif. — 7 décembre, trypan. non rares. — 10 décembre, examen négatif. — 18 et 21 décembre, trypan. rares. — 24 décembre. Le chien est très malade, couché sur le flanc, il ne peut plus se relever. Anémie profonde, sang pâle; trypan. assez rares.

Le chien est trouvé mort le 25 décembre. Il pèse 7kg,150. La rate pèse 84 grammes. Il n'y a pas d'œdèmes, pas d'épanchements dans les séreuses. Les reins sont petits, un peu granuleux. Rien à noter du côté du cœur ni des poumons.

Durée : 40 jours.

2° Un chien reçoit le 2 mai 1907, dans le péritoine, 30 c. c. du sang d'une chèvre infectée avec *Tr. congolense*. — Du 8 au 13 mai, les examens du sang sont négatifs. — 16 mai, trypan. rares. — 18 mai, trypan. très rares. — 21 mai, trypan. non rares. Agglutination très belle des hématies, notée déjà lors des examens faits les 16 et 18 mai. — 24 mai, trypan. nombreux. Le chien est malade, toujours couché. Conjonctivite légère des deux côtés sans opacité des cornées.

Le chien meurt le 26 mai; il pèse 12 kg. Œdème assez étendu de la paroi abdominale. Quelques gros ganglions lymphatiques, notamment à la racine du membre antérieur droit. Épanchements séreux teintés de sang dans le péritoine, dans la plèvre droite et dans le péricarde.

La rate est énorme, elle pèse 270 grammes. Le parenchyme splénique est très mou; il n'y a pas de déchirure. Rien à noter du côté du foie ni du côté des reins.

Péricarde pariétal couvert de petites ecchymoses. Poumons splénisés à la partie inférieure.

Durée : 24 jours.

5° *Evolution chez les singes.* — L'observation suivante prouve que les Macaques s'infectent facilement par *Tr. congolense* et que ce trypanosome détermine chez eux une maladie à marche rapide.

Un *Macacus rhesus* ♂ du poids de 2kg,570 est inoculé le 25 mars 1907 sur cobaye. — Le 31 mars, l'examen du sang est négatif. — 3 avril, trypan. rares. — 6 et 8 avril, trypan. non rares; les hématies s'agglutinent. — 10 avril, trypan. assez nombreux. — 13 avril, le singe est moins vif, il paraît souvent endormi. Trypan. nombreux. Agglutination des hématies. — 16, le singe s'affaiblit de plus en plus, il se laisse prendre facilement alors qu'auparavant il faisait une forte résistance. Un peu d'œdème des bourses. Trypan. nombreux.

Le singe va s'affaiblissant et meurt le 18 avril. Poids : 2kg,470. Œdème de la paroi abdominale. Les ganglions axillaires et inguinaux sont augmentés de volume. Pas d'épanchements dans les séreuses.

La rate pèse 16 grammes. Rien à noter du côté des viscères abdominaux ou thoraciques.

Durée : 24 jours.

6° *Evolution chez les Caprins.* — Les chèvres s'infectent facilement ; la maladie, d'assez longue durée, se termine d'ordinaire par la guérison.

On trouvera plus loin les observations détaillées d'une chèvre et d'un bouc qui ont très bien résisté à l'infection due à *Tr. congolense*.

La chèvre inoculée le 15 novembre 1906 a eu une poussée fébrile assez forte à partir du 8^e jour après l'inoculation, et ensuite quelques poussées de moindre importance, puis la température est redevenue normale.

Des trypanosomes très rares ont été vus à différentes reprises, principalement au moment des poussées fébriles et le sang s'est montré infectant pour les chiens jusqu'au 6^e mois après l'inoculation.

En dehors des poussées fébriles et de l'existence des trypanosomes dans le sang, aucun symptôme morbide n'a été constaté.

Lorsque le sang ne s'est plus montré infectant, la chèvre a été réinoculée avec *Tr. congolense*, cette opération a été suivie d'une légère réinfection ; deux autres réinoculations ont été faites ensuite sans résultat, la chèvre avait donc acquis une immunité solide pour *Tr. congolense*.

L'observation du bouc est semblable à celle de la chèvre, l'infection produite par *Tr. congolense* a été seulement de plus longue durée (10 mois environ), aucun symptôme morbide apparent n'a été noté au cours de l'infection. Une première réinoculation a été suivie d'une réinfection légère ; deux autres réinoculations ont été faites ensuite sans résultat ; le bouc avait donc acquis, comme la chèvre, une immunité solide pour *Tr. congolense*.

Chez les moutons infectés spontanément par *Tr. congolense*, on observe une diminution de l'appétit, un amaigrissement très marqué, de la faiblesse des membres, de l'anémie avec hémophilie. Les trypanosomes sont toujours rares ou très rares dans le sang (Broden).

7° *Evolution chez les Bovidés.* — Les Bovidés infectés devien-

ment paresseux, ils marchent en queue du troupeau; au pâturage ils restent isolés, immobiles, la tête inclinée vers le sol.

A une période plus avancée de l'infection, les animaux maigrissent, les côtes deviennent saillantes. Le poil est terne, sale; souvent il existe de la conjonctivite. Les animaux marchent péniblement, en traînant les membres postérieurs. Il n'y a pas d'œdèmes; les ganglions lymphatiques sont d'ordinaire hypertrophiés. L'examen du sang est souvent négatif; il est plus facile de trouver les trypanosomes en ponctionnant les ganglions lymphatiques superficiels que par examen direct du sang. La durée de l'infection est assez longue (Broden).

8° *Evolution chez les Equidés.* — Le symptôme principal est l'amaigrissement. Il n'y a pas d'œdèmes. Les trypanosomes sont rares dans le sang. Un âne infecté spontanément au poste de Galiema est mort au cinquième mois de la maladie (Broden).

III. ANATOMIE PATHOLOGIQUE.

L'hypersplénie est souvent la seule lésion notée à l'autopsie des animaux qui succombent à l'infection produite par *Tr. congolense*.

Chez la souris, le rat, le cobaye et le chien, la rate est toujours augmentée de volume; chez les Bovidés au contraire, et vraisemblablement chez les Caprins, l'hypersplénie fait défaut. C'est une règle pour les trypanosomiasés que la rate augmente beaucoup de volume chez les animaux qui ont de nombreux trypanosomes dans le sang, tandis qu'elle conserve à peu près ses dimensions normales chez ceux qui, au cours de l'infection, ne montrent que de rares trypanosomes. Cette règle s'applique bien aux infections dues à *Tr. congolense*.

Le poids de la rate pour des souris de 20 gr. atteint souvent 1 gr. 50 à 2 gr.

Chez une souris de 25 gr. la rate pesait 5 gr., soit le cinquième du poids du corps.

Chez des rats de 80 à 100 gr. le poids de la rate a atteint plusieurs fois 2 gr., 2 gr. 50 et même 3 gr.

Pour 57 cobayes du poids moyen de 500 gr, le poids moyen de la rate a été de 4 gr. 50.

Les ruptures de la rate suivies d'épanchement sanguin in-

trapéritonéal ont été notées 21 fois pour 100 chez les cobayes infectés avec *Tr. congolense*. Cet accident se produit également dans d'autres trypanosomiasés mais, d'après mes observations, avec une fréquence moins grande (1).

Je résume ci-dessous les observations des cobayes chez lesquels j'ai observé des déchirures de la rate, ou des lésions de ce viscère précédant la déchirure.

Cobaye 1. Inoculé le 2 novembre 1906 (?). Le 17 novembre, trypan, nombreux. Mort le 18 novembre. Le cobaye pèse 580 gr. Il existe un épanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate qui pèse 8 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 2. Inoculé le 17 novembre 1906. 30 nov. trypan, nombreux. Mort le 1^{er} décembre. Le cobaye pèse 520 gr. Œdème de la paroi abdominale; épanchement sanguin intrapéritonéal abondant; la rate qui pèse 5 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 3. Inoculé le 27 novembre 1906. Mort le 30 novembre. Le cobaye pèse 550 gr. Épanchement sanguin abondant dans le péritoine; la rate qui pèse 8 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 4. Inoculé le 23 janvier 1907. 4 février, trypan, assez nombreux. Mort le 10 février. Le cobaye pèse 480 gr. Épanchement sanguin très abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. présente une déchirure très apparente.

Cobaye 5. Inoculé le 4 février 1907. 12 février, trypan, assez nombreux. Mort le 18 février. Le cobaye pèse 730 gr. Épanchement abondant de sang dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 6. Inoculé le 4 février 1907. Mort le 18 février. Le cobaye pèse 750 gr. Épanchement de sang dans le péritoine. La rate qui pèse 7 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 7. Inoculé le 19 avril 1907. 26 avril, trypan, non rares. Mort le 1^{er} mai. Le cobaye pèse 400 gr. Hémorragie abondante dans le péritoine. La rate pèse 3 gr. L'existence d'une déchirure de la rate n'a pas été établie, mais elle est très probable.

Cobaye 8. Inoculé le 24 mai 1907. 4 juin, trypan, nombreux. Mort le 5 juin. Le cobaye pèse 450 gr. Épanchement sanguin abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 4 gr. présente une petite déchirure à la face interne, au voisinage du hile.

Cobaye 9. Inoculé le 5 décembre 1907. Mort le 21 septembre avec des trypan, nombreux. Le cobaye pèse 350 gr. Épanchement de sang abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. présente une petite déchirure.

(1) A. LAVERAN, *Société de pathologie exotique*, 8 juillet 1908.

(2) Toutes les inoculations de *Tr. congolense* chez les cobayes ont été faites dans une des cuisses.

Cobaye 10. Inoculé le 40 décembre 1907. Mort le 23 décembre avec des trypan. nombreux. Le cobaye pèse 430 gr. Epanchement abondant de sang dans le péritoine. La rate qui pèse 5 gr. présente une petite déchirure.

Cobaye 11. Inoculé le 17 janvier 1908. 6 février, trypan. assez nombreux. Mort le 9 février. Le cobaye pèse 470 gr. Epanchement sanguin abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 4 gr. présente une petite déchirure sur son bord antérieur.

Cobaye 12. Inoculé le 17 janvier 1908. Le 28 février le cobaye ne s'est pas infecté; il est réinoculé dans le péritoine. 11 mars, trypan. assez nombreux. Mort le 14 mars. Le cobaye pèse 480 gr. Epanchement sanguin dans le péritoine. La rate est énorme, elle pèse 49 gr. Elle est ramollie, mais il n'est pas possible de découvrir une déchirure comme point de départ de l'hémorragie intrapéritonéale. La paroi abdominale est infiltrée de sang. A la coupe de la rate, on trouve des infarctus hémorragiques.

Cobaye 13. Inoculé le 8 avril 1908. 22 avril, trypan. nombreux. Mort le 23 avril. Le cobaye pèse 580 gr. Epanchement sanguin abondant dans le péritoine. La rate qui pèse 6 gr. 50 présente une petite déchirure à sa partie supérieure.

Cobaye 14. Inoculé le 26 avril 1908. Mort le 40 mai. Le cobaye pèse 510 gr. Epanchement sanguin très abondant dans le péritoine. A la face interne de la rate, déchirure qui occupe la moitié de la hauteur du viscère, la capsule est décollée. Il paraît évident qu'un foyer hémorragique de la rate s'est rompu dans le péritoine. La rate pèse 7 gr. Tous les viscères sont anémiés.

Cobaye 15. Inoculé le 13 mai 1908. Mort le 29 mai. Le cobaye pèse 400 gr. Epanchement sanguin très abondant dans le péritoine. A la face interne de la rate, large déchirure qui occupe toute la moitié inférieure; la capsule est décollée autour de la déchirure. Il paraît évident qu'il y a eu rupture dans le péritoine d'un foyer hémorragique qui s'était produit dans la rate. La rate pèse 5 gr. Tous les viscères sont anémiés.

Cobaye 16. Inoculé le 13 mai 1908. Mort le 40 juin. Le cobaye pèse 300 gr. Il n'y a pas d'épanchement sanguin dans le péritoine. La rate est volumineuse, elle pèse 5 gr. A la partie inférieure de la rate on trouve un foyer hémorragique fluctuant, du volume d'une noix. Le foyer est très superficiel contenu seulement par la capsule de la rate qui est soulevée et qui a pris au niveau du foyer une teinte rouge foncé. Si la capsule s'était rompue, il y aurait eu formation d'un épanchement sanguin intrapéritonéal et on aurait trouvé des lésions spléniques tout à fait semblables à celles notées chez les cobayes 14 et 15.

Cobaye 17. Inoculé le 23 mai 1908. Le cobaye s'infecte et meurt le 46 juin. Il pèse 500 gr. Epanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate considérablement hypertrophiée présente, à sa face externe, une déchirure transversale qui mesure 4 cm. 5 de long. Il n'y a pas de foyers d'hémorragie dans la rate. La rate pèse 10 gr.

Les déchirures de la rate se produisent par un des procédés

suivants : 1° la capsule de la rate fortement distendue cède sur un ou plusieurs points; 2° il se produit une hémorragie intrasplénique qui, si elle est superficielle, soulève la capsule, la décolle et la rompt (les observations des cobayes 14, 15 et 16 sont des exemples de ce mécanisme de la déchirure).

Les traumatismes (chute, action de saisir brusquement les cobayes, etc...), peuvent faciliter les déchirures de la rate, mais ils ne sont pas nécessaires pour la production de ces accidents. J'ai observé la déchirure de la rate chez beaucoup de cobayes qui, depuis plusieurs jours, n'avaient pas été maniés.

Les hémorragies intraspléniques expliquent l'énorme développement que la rate prend quelquefois.

L'hypersplénie est constante et parfois considérable chez les chiens qui succombent à l'infection due au *Tr. congolense*. Chez un chien du poids de 12 kg., la rate pesait 200 gr.; elle était très molle; chez un autre chien du poids de 9 kg., la rate pesait 175 gr.

Chez les Bovidés, les ganglions lymphatiques sont souvent hypertrophiés. Des exsudats de sérosité citrine ou sanguinolente, dans le péritoine ou dans le péricarde, sont signalés par Broden comme fréquents.

IV

NATURE DU *Tr. congolense*. DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL AVEC *Tr. dimorphon*,

Par ses petites dimensions, *Tr. congolense* se distingue nettement des trypanosomes du type *Tr. Evansi* (*Tr. Brucei*, *Tr. gambiense*, *Tr. Cazalbowi*, *Tr. soudanense*).

Tr. nanum (1) a, au point de vue morphologique, une grande ressemblance avec *Tr. congolense*, mais, d'après A. Balfour, *Tr. nanum* serait particulier aux Bovidés: *Tr. congolense* est au contraire inoculable à un grand nombre de Mammifères.

C'est avec *Tr. dimorphon* que *Tr. congolense* présente les plus grandes analogies; tous les observateurs qui ont étudié ces trypanosomes ont insisté sur les difficultés du diagnostic différentiel, quelques-uns ont admis leur identité.

(1) A. LAVERAN, *Société de Biologie*, 18 février 1905. — A. BALFOUR, *Edinburgh med. Journal*, septembre 1905.

Au point de vue morphologique, *Tr. congolense* diffère de *Tr. dimorphon*. Le premier de ces trypanosomes mesure 10μ à 13μ de long, les exemplaires qui atteignent 15μ à 17μ de long sont fort rares; *Tr. dimorphon* présente au contraire, dans les cas types, un mélange de petites formes (10μ à 15μ de long) et de grandes formes (22μ de long en moyenne). Il suffit de comparer les figures II et III, pour se rendre compte des différences existant entre les formes typiques de ces deux trypanosomes. Mais *Tr. dimorphon* ne se présente pas toujours sous ses formes typiques.

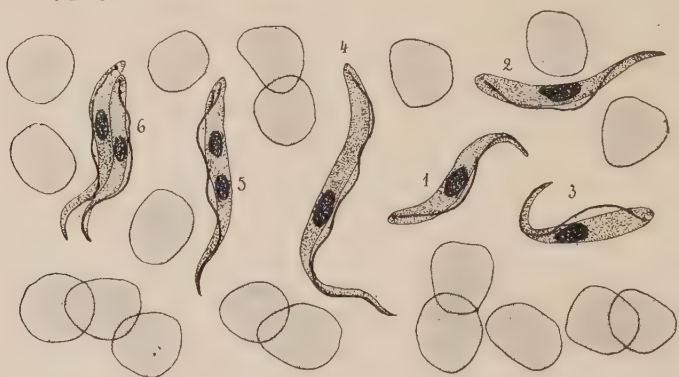
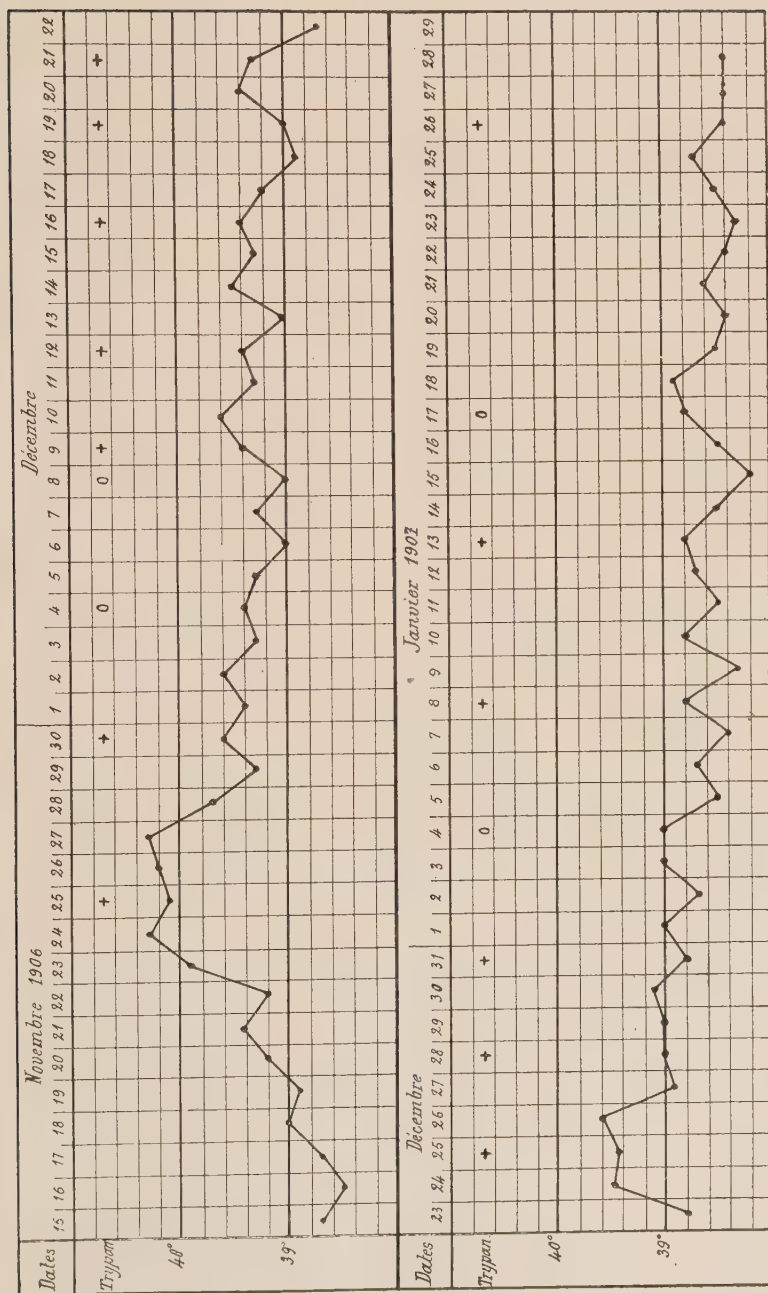


Figure III. 1, 2, 3, petites formes de *Tr. dimorphon*. — 4, grande forme de *Tr. dimorphon*. — 5 et 6, trypanosomes en voie de division. Gross. 1400 D environ.

Dans certaines infections dues à *Tr. dimorphon*, les grandes formes sont rares ou très rares; si bien qu'on pourrait supposer que *Tr. congolense* était une variété de *Tr. dimorphon* dans laquelle les grandes formes avaient disparu. *Tr. congolense* a la plus grande ressemblance avec les petites formes de *Tr. dimorphon* : l'extrémité postérieure est le plus souvent arrondie et il n'y a pas de partie libre du flagelle.

L'action pathogène sur les différentes espèces animales ne fournit pas non plus d'indications suffisantes pour le diagnostic différentiel. On peut noter seulement que les infections par *Tr. dimorphon* ont, en général, une marche plus rapide que celles qui sont produites par *Tr. congolense*.

Chez la souris, l'infection due à *Tr. congolense* est d'ordinaire de plus longue durée que celle qui est produite par *Tr. dimorphon*.



Tracé n° 1. Tracé thermométrique de la chèvre inoculée avec *Tr. congolense* le 15 novembre 1966.

Chez les Caprins, les infections dues à *Tr. congolense* se terminent plus souvent par guérison que celles qui relèvent de *Tr. dimorphon*.

En général, les animaux (chèvres, moutons) qui ont résisté à l'infection par *Tr. dimorphon* n'ont pas l'immunité, alors que les animaux guéris naturellement d'une infection par *Tr. congolense* acquièrent l'immunité pour ce virus.

Il était indiqué de rechercher si un animal guéri d'une infection par *Tr. congolense* et ayant l'immunité pour cette trypanosomiase pourrait être infecté par *Tr. dimorphon*. J'ai pu réaliser cette expérience sur une chèvre et sur un bouc, je résume les observations de ces deux animaux.

I. Une chèvre neuve du poids de 31^{kg} est inoculée avec *Trypanosoma congolense* le 15 novembre 1906. L'inoculation est faite sous la peau de l'oreille avec du sang de cobaye dilué dans de l'eau physiologique citratée.

La chèvre a une poussée fébrile du 23 au 28 novembre; température maxima 40°,3.

Les examens du sang de la chèvre, faits le 25 novembre et à différentes reprises pendant les mois de décembre 1906 et de janvier 1907, révèlent l'existence de trypanosomes rares ou très rares.

Du 29 novembre au 26 décembre, la température de la chèvre se maintient entre 39° et 39°,6 (Voir tracé n° 1).

Le 1^{er} décembre, la chèvre pèse 27^{kg}; les 15 et 31 décembre, 32^{kg}.

A partir du 27 décembre, et pendant les mois qui suivent, la température se maintient entre 38° et 39°; elle est donc normale.

Pendant les mois de février, mars et avril, les examens du sang sont le plus souvent négatifs; cependant on note à diverses reprises la présence de trypanosomes très rares. La chèvre va bien; elle pèse, le 17 février, le 18 mars et le 15 avril, 34^{kg}.

A partir du 8 avril, les examens directs du sang de la chèvre sont négatifs.

Le 2 mai, on injecte à un chien, dans le péritoine, 30^{cm}³ du sang de la chèvre; le chien s'infecte et meurt le 26 mai.

Le 3 juin, on inocule avec le sang de la chèvre un cobaye (4^{cm}³ de sang dans le péritoine) et deux souris; ces animaux ne s'infectent pas.

Un chien inoculé le 15 juillet (30^{cm}³ de sang dans le péritoine) ne s'infecte pas.

Le 22 août, la chèvre qui paraît guérie est réinoculée avec *Tr. congolense*; elle ne présente à la suite de cette inoculation aucun symptôme morbide.

6 septembre. On inocule, sur la chèvre, un chien qui reçoit dans le péritoine 30^{cm}³ de sang et trois souris qui reçoivent chacune 0^{cm}³,25 de sang. Le chien s'infecte et meurt, les souris ne s'infectent pas. Les examens du sang de la chèvre sont négatifs.

La chèvre va très bien; elle pèse le 2 octobre 39^{kg} et le 4 novembre 41^{kg}.

Un chien inoculé le 7 octobre (30^{cm3} de sang dans le péritoine) s'infecte; un autre chien inoculé le 7 novembre, dans les mêmes conditions, ne s'infecte pas. La réinfection de la chèvre a donc été légère.

Le 20 décembre, la chèvre est réinoculée de *Tr. congolense*.

6 janvier 1908. Un chien reçoit, dans le péritoine, 40^{cm3} du sang de la chèvre; il ne s'infecte pas.

6 février. Je réinocule encore la chèvre avec *Tr. congolense*.

21 février. Un chien reçoit, dans le péritoine, 40^{cm3} du sang de la chèvre; il ne s'infecte pas.

Après ces deux épreuves, il paraît bien établi que la chèvre est guérie et qu'elle a acquis l'immunité pour *Tr. congolense*.

1^{er} avril 1908. La chèvre est en très bon état, elle pèse 44^{kg}. Les chiens inoculés le 6 janvier et le 21 février, chacun avec 40^{cm3} de sang, ne se sont pas infectés. J'inocule la chèvre sous la peau des oreilles avec le sang d'une souris fortement infectée de *Tr. dimorphon*.

Le 10 avril, la température de la chèvre monte à 40° et, le 13 avril, à 41°1 (température normale 38°7). (Voir tracé n° 2). L'examen du sang de la chèvre fait le 13 avril révèle l'existence de trypanosomes non rares.

Sur les préparations colorées, on distingue de petits et de grands trypanosomes.

Le 15 avril, nouvelle poussée fébrile; le thermomètre, qui était descendu le 14 à 38°8, monte le 15 à 40°8. Les trypanosomes sont moins nombreux dans le sang de la chèvre que le 13 avril.

Le 16 avril, la température est de 40°, et le 17, de 39°6. L'examen du sang fait le 17 avril révèle encore l'existence de trypanosomes.

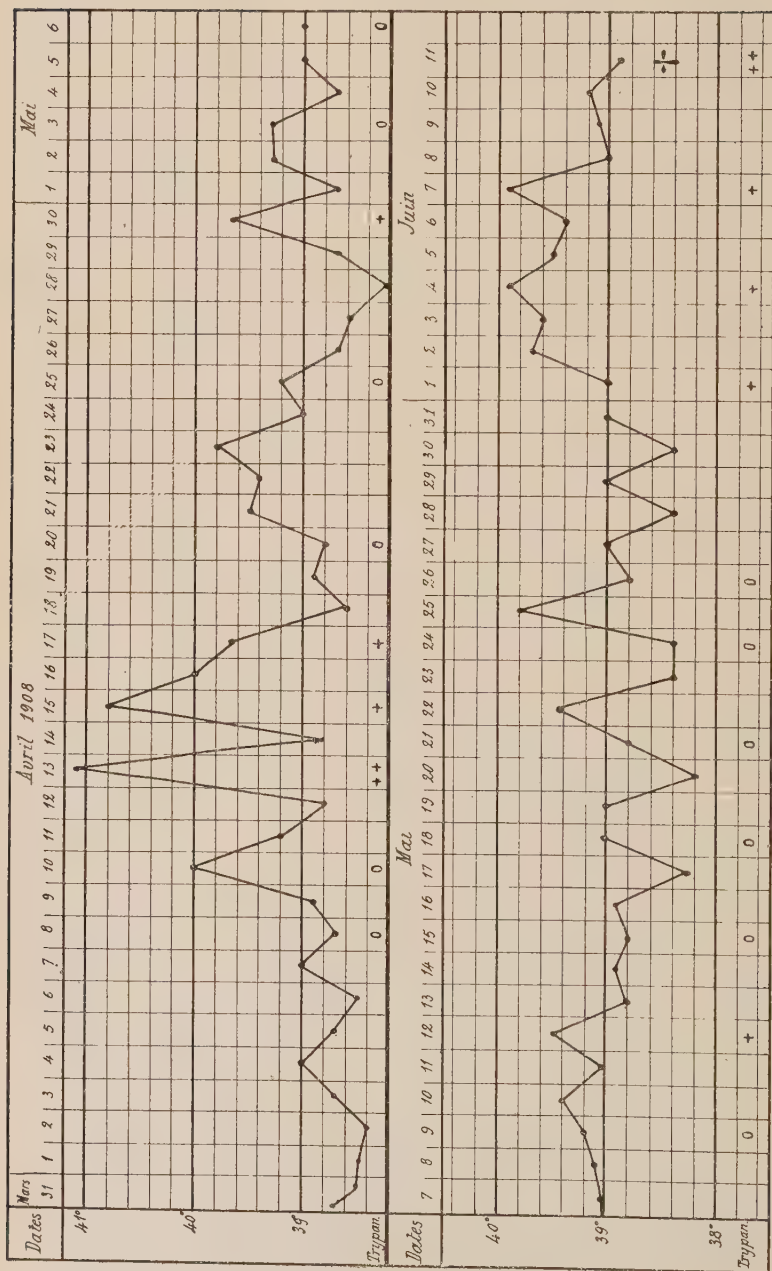
A partir du 17 avril, jusqu'au 1^{er} juin, la température se maintient aux environs de 39°; à quatre reprises seulement on note de faibles poussées fébriles avec des températures de 39°8, 39°7, 39°5, 39°8 (Voir le tracé). Les examens du sang faits pendant cette période sont le plus souvent négatifs; je note seulement 3 fois l'existence de trypanosomes rares (30 avril, 12 mai, 1^{er} juin). Trois souris inoculées le 19 mai, chacune avec 0^{cm3},25 du sang de la chèvre s'infectent et meurent de trypanosomiase.

La chèvre maigrit, le poids qui, le 1^{er} avril, était de 44^{kg} tombe le 1^{er} mai à 42^{kg} et le 1^{er} juin à 37^{kg}. Anémie qui, marquée dès le 15 mai, va en augmentant. Les muqueuses se décolorent, le sang est de plus en plus pâle.

Du 2 au 7 juin, on note une poussée fébrile pendant laquelle la température atteint 39°9. Les examens du sang faits les 4 et 7 juin montrent des trypanosomes rares. La chèvre s'anémie et s'affaiblit.

Du 8 au 11, la température se maintient à 39°; le 11 au matin on note encore 38°9; à l'examen du sang, je constate des trypanosomes non rares. La chèvre est très faible, elle reste couchée et meurt brusquement le 11 juin au soir.

Autopsie faite le 12 juin. Poids de la chèvre : 34^{kg},600. Il y a encore beaucoup de graisse dans les épiploons, autour des reins et du cœur. Pas d'œdèmes. Un peu de sérosité citrine dans le péritoine. Les reins sont très



Tracé n° 2. Tracé thermométrique de la chèvre ayant l'immunité pour *Tr. congolense*, inoculée de *Tr. dimorphon* le 1^{er} avril 1908.

pâles (anémie). La rate pèse 223 gr. Poumons et cœur normaux. Pas d'épanchements séreux dans les plèvres ni dans le péricarde.

II. Un chevreau du poids de 13^{kg} est inoculé le 6 décembre 1906, sous la peau d'une des oreilles, avec quelques gouttes du sang d'un rat infecté de *Tr. congolense*, diluées dans de l'eau physiologique citratée.

Du 16 au 28 décembre, on constate à plusieurs reprises l'existence de trypanosomes rares dans le sang du chevreau.

31 décembre, examen du sang négatif. Poids : 14^{kg}, 700.

17 janvier 1907, trypanosomes très rares.

1^{er} février. Poids : 14^{kg}. Du 26 janvier au 25 février, les examens du sang sont négatifs.

17 février. Le chevreau pèse 17^{kg}.

25 février. On inocule trois souris ; chacune d'elles reçoit, dans le péritoine, 0^{cm}³, 25 du sang de chevreau. Les souris s'infectent et meurent de trypanosomiase.

3 mars, trypanosomes rares dans le sang du chevreau. Du 8 au 23 mars, les examens sont négatifs. Le 4 mars, le chevreau pèse 18^{kg}.

28 mars, trypanosomes très rares.

Du 3 au 23 avril, les examens du sang sont négatifs.

27 avril, trypanosomes très rares.

Du 2 au 27 mai, examens du sang négatifs. Le 1^{er} mai, le chevreau pèse 21^{kg} et le 16 mai 22^{kg}.

Les examens du sang faits au mois de juin sont négatifs. Le 27 juin on inocule à un chien, dans le péritoine, 25^{cm}³ du sang du chevreau ; le chien est infecté le 9 juillet et il meurt le 18 juillet. Poids du chevreau les 1^{er} et 15 juin : 24 ^{kg}.

22 août. Un chien inoculé s'infecte et meurt de trypanosomiase.

10 octobre. Un chien inoculé (30^{cm}³ de sang dans le péritoine) ne s'infecte pas.

13 novembre. Le chevreau est réinoculé sur un cobaye infecté de *Tr. congolense*. Le chevreau, qui est devenu un bouc, pèse 24^{kg}.

28 novembre. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30^{cm}³ du sang du bouc ; il s'infecte et meurt de trypanosomiase.

13 janvier 1908. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30^{cm}³ du sang du bouc ; il ne s'infecte pas.

Au mois de février 1908, le bouc qui incommode le voisinage par ses cris est castré.

4 mars. Le bouc est réinoculé sur un cobaye infecté de *Tr. congolense*. Poids : 26^{kg}.

19 mars. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30^{cm}³ du sang du bouc ; il ne s'infecte pas.

2 avril. Le bouc pèse 27^{kg}.

22 avril. Le bouc est réinoculé sur un cobaye infecté de *Tr. congolense*. La température du bouc, prise du 22 avril au 17 mai reste normale et les examens du sang faits à plusieurs reprises sont négatifs.

7 mai. Un chien reçoit, dans le péritoine, 30^{cm}³ du sang du bouc.

Le 1^{er} mai, le bouc pèse 32^{kg}, et le 16 mai, 33^{kg}.

Le 7 mai, un chi n reçoit, dans le péritoine, 30^{cm}³ du sang du bouc.

Le 1^{er} juin, le bouc pèse 33^{kg}, et le 15, 33^{kg}, 700.

23 juin. Le chien inoculé le 7 mai ne s'est pas infecté; j'inocule le bouc avec le *Tr. dimorphon* (virus du laboratoire de l'Institut Pasteur). Quelques gouttes du sang d'une souris ayant des trypanosomes très nombreux sont diluées dans de l'eau physiologique citratée et injectées sous la peau d'une des oreilles.

Du 23 juin au 1^{er} juillet, la température du bouc se maintient entre 38^o,3 et 38^o,8 (normale). A partir du 2 juillet, on observe des poussées fébriles (39^o,4 les 3 et 8 juillet, 39^o,7 le 10 et 39^o,8 le 12 juillet). (Voir le tracé n° 3). Le bouc est moins vif; il maigrit un peu; le 2 juillet, il pèse 31^{kg}, 400. Le 4 juillet, je note, à l'examen du sang du bouc, des trypanosomes très rares.

Les 7 et 9 juillet, les examens sont négatifs; 11 et 14 juillet, trypanosomes très rares.

Les 19 et 29 juillet, poussées fébriles; la température s'élève à 40^o,2 et 40^o,3.

Les examens du sang faits les 19, 21, 24, 29 et 31 juillet sont négatifs.

Le 1^{er} août, trois souris blanches sont inoculées; chaque souris reçoit, dans le péritoine, 0^{cm}³, 25 de sang du bouc; les trois souris s'infectent en 7 ou 8 jours.

Le 3 août, l'examen direct du sang du bouc révèle l'existence de trypanosomes très rares. Les examens du sang faits les 6, 9 et 23 août sont négatifs.

Pendant le mois d'août, le bouc a encore des poussées fébriles, mais ces poussées sont moins fortes qu'en juillet. Du 4 au 6 août, la température se maintient à 39^o,4 ou 39^o,6; du 12 au 31 août, elle s'élève à plusieurs reprises à 39^o,2 ou 39^o,4.

Le bouc, qui avait maigri, augmente de poids; il pèse, le 1^{er} et le 15 août, 35^{kg}.

En dehors des poussées fébriles, on n'observe aucun symptôme morbide.

A partir du 7 septembre, la température se maintient entre 38^o,2 et 38^o,7, c'est-à-dire qu'elle est normale.

Le 3 septembre, le bouc pèse 32^{kg}, 300 et le 16 septembre 33^{kg}.

Les examens du sang faits les 6, 10, 18 et 23 septembre sont négatifs, mais sur 3 souris inoculées le 10 septembre avec le sang du bouc 2 s'infectent en 7 et 9 jours.

Ces deux observations présentent de grandes analogies. La chèvre et le bouc inoculés avec *Tr. congolense* se sont infectés et, dans les deux cas, l'infection s'est terminée par guérison. La durée de la maladie a été seulement plus longue chez le bouc que chez la chèvre.

Les deux animaux réinoculés une première fois avec *Tr. congolense* ont eu des réinfections légères, de durée très

courte, après quoi deux réinoculations sont restées sans résultat, d'où l'on peut conclure que la chèvre et le bouc avaient acquis une immunité solide pour *Tr. congolense*. L'inoculation du *Tr. dimorphon* faite alors a produit, chez les deux animaux, une infection typique, identique à celle qu'on observe chez des chèvres neuves, infection très grave qui s'est terminée par la mort dans un cas (72 jours) et qui est encore en cours dans l'autre cas.

Il serait intéressant de faire la contre-épreuve et de montrer qu'un animal ayant acquis l'immunité pour le *Tr. dimorphon* reste sensible au *Tr. congolense*; malheureusement les animaux infectés par *Tr. dimorphon* qui résistent à cette trypanosomiase, acquièrent rarement l'immunité.

Dès maintenant, je crois pouvoir conclure des faits cités plus haut que *Tr. congolense* constitue une espèce distincte de *Tr. dimorphon*.

V

PROPHYLAXIE. TRAITEMENT.

Il est vraisemblable que l'infection due à *Tr. congolense* est propagée par les *Glossina* qui abondent dans l'État indépendant du Congo et peut-être aussi par d'autres mouches piquantes. Il faut donc : 1^o abattre les animaux malades ou du moins les soustraire aux piqûres des mouches ; 2^o éviter les pâturages qui sont situés sur les bords des cours d'eau ; c'est là en effet que pullulent les *Glossina*. Il est indiqué de déboiser le terrain aux environs des villages et des fermes. Cette mesure est une des plus efficaces que l'on puisse conseiller pour la prévention de la trypanosomiase humaine comme pour celle des trypanosomiasés animales.

Si l'on est obligé de conserver des animaux domestiques dans une localité où les mouches piquantes abondent, on pourra mettre les animaux dans des écuries dont toutes les ouvertures seront garnies de toiles métalliques et on ne les fera sortir que pendant la nuit.

En général, il vaut mieux abattre les animaux infectés de

trypanosomiase que de les traiter; cependant, quand il s'agit d'animaux de prix, on peut les soumettre au traitement par l'orpiment qui a donné de très bons résultats à MM. Thiroux et Teppaz dans le traitement de chevaux atteints de trypanosomiase au Sénégal (1).

(1) *Académie des sciences*, 12 octobre 1908.

Sur les propriétés des races de Trypanosomes résistantes aux médicaments.

PAR F. MESNIL ET E. BRIMONT (1)

Lorsque, au cours du traitement d'un animal infecté de trypanosomiase, les rechutes se précipitent, il peut arriver un moment où les trypanosomes ne sont plus influencés par une nouvelle injection du médicament. C'est là une constatation qui a été faite certainement par tous ceux qui, depuis 1902, se sont occupés de chimiothérapie. L'un de nous, en collaboration avec M. Nicolle (2), l'a nettement formulée. Le mérite d'Ehrlich et de ses collaborateurs, Röhl et Browning (3), est d'avoir reconnu que ces trypanosomes résistants pouvaient l'être *héréditairement*, qu'il y avait, en d'autres termes, création d'une *race* nouvelle. Il convient de remarquer qu'il n'en est pas toujours ainsi. Par exemple, Uhlenhuth, Hübener et Woithe (4), en traitant par l'atoxyl des animaux dourinés, ont vu la résistance des Trypan. à ce médicament apparaître graduellement jusqu'à devenir complète ; mais elle ne peut être transmise chez un autre animal. Nous (5) avons fait une constatation analogue pour les souris naganées traitées à l'émétique, et Plimmer et Bateman (6) viennent de confirmer ce fait pour les rats traités avec le même médicament.

Quoi qu'il en soit, la découverte d'Ehrlich n'en a pas moins un caractère de généralité. Ce savant et ses collaborateurs ont créé diverses *racés* résistantes : à l'atoxyl, à diverses couleurs de benzi-dine, à la parafluchsine. Plimmer et Thomson (7) ont préparé de leur côté, chez les rats, des races de Surra et de Nagana résistantes à l'atoxyl qui avaient conservé leurs propriétés à travers 6-8 passages.

Nous avons aussi obtenu facilement une race de Surra égale-

(1) Nous tenons à inscrire à la 4^{re} page de ce travail le nom de M. le docteur M. Leger qui nous a apporté son concours dévoué dans une partie de nos expériences.

(2) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XX, 1906 ; voir p. 528.

(3) EHRLICH, *Berlin. klin. Woch.*, mars 1907, nos 9-12 ; — BROWNING, *British med. Journ.*, nov. 1907 ; *Journ. Path. a. Bacter.*, t. XII, 1908.

(4) *Arch. a. d. Kaiserl. Gesundh.*, t. XXVII, 1907.

(5) *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, 9 mai 1908.

(6) *Proc. Roy. Soc., B.*, 25 août 1908.

(7) *Proc. Roy. Soc., B.*, t. LXXIX, 1907.

ment résistante à l'atoxyl (1) et nous avons pu la rendre résistante à l'émétique. La possession de ces races nous a permis de découvrir un certain nombre de faits nouveaux que nous avons fait connaître brièvement : importance de l'espèce animale infectée pour la *manifestation* de la résistance ; évaluation *in vitro* de la résistance à l'émétique. Nous avons de plus étendu la notion, posée par Ehrlich, de la spécificité des races. Nos constatations relatives à l'importance de l'espèce animale pour la manifestation de la résistance ont été confirmées et étendues par les recherches des savants de Liverpool, Breinl et Nierenstein d'une part (2), Moore, Nierenstein et Todd (3) de l'autre. Nous discuterons leurs résultats après avoir exposé les nôtres en détail.

I

RACE DE *T. GAMBIENSE* RÉSISTANTE A LA COULEUR DE BENZIDINE « PH »

Mesnil, Nicolle et Aubert (4) ont montré que la couleur de benzidine la plus active vis-à-vis des infections à *T. gambiense* était la couleur « Ph » (p. diamidodiphénylurée + acide H).

Or, chez un rat qui, traité par cette couleur à la dose de 3 centigrammes par 100 grammes, montrait des rechutes précipitées, la 3^e injection de la couleur n'a eu qu'une action faible sur les trypanosomes, la 4^e n'a plus agi du tout. Le 11 avril 1907, 5 jours après cette dernière intervention, le virus a été porté sur d'autres rats. L'un d'eux, traité par Ph, à 2 reprises, sans succès, a été, 7 jours après la 2^e intervention, le point de départ d'une série de passages. Au 5^e, les trypanosomes, qui n'avaient plus eu de contact avec le médicament depuis 6 mois, étaient encore résistants (5 centigrammes de Ph n'ont pu faire disparaître les trypanosomes de la circulation d'un rat de 120 grammes). Au 6^e, les trypanosomes étaient redevenus sensibles à Ph. Ils ont toujours conservé leur sensibilité normale à l'atoxyl.

II

OBTENTION D'UNE RACE DE *SURRA* RÉSISTANTE A L'ATOXYL

Nous avons obtenu cette race avec facilité en profitant des

(1) *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIV, 11 avril 1908.

(2) *Deutsche mediz. Woch.*, n° 27, 1908.

(3) *Ann. of trop. Med. a. Parasit.*, t. II, juillet 1908.

(4) *Ann. Inst Pasteur*, t. XXI, 25 janvier 1907.

recherches thérapeutiques entreprises à Alfort, au laboratoire de M. Vallée, par le Dr Lafont et encore inédites.

Un cheval inoculé de trypanosomes du Surra de l'île Maurice, gardés sur cobaye depuis 6 mois environ, est pris, sans retard dans l'incubation, malgré une injection préventive de 5 grammes d'atoxyl. Il est soumis au traitement atoxylique par doses de quelques grammes ; on constate qu'au bout d'un certain temps ces mêmes doses n'agissent plus. Ainsi, au 28^e jour (26 mars 1907), alors que l'animal avait déjà reçu 34 grammes d'atoxyl, une nouvelle injection, dosée comme les précédentes, reste sans effet. Mais il faut noter que cette résistance n'était que relative, car de plus fortes doses d'atoxyl ont fait à nouveau disparaître les trypanosomes et le cheval a encore pu être gardé vivant près de 2 mois.

Le 26 mars, immédiatement avant l'injection, on inocule le sang du cheval à une souris, qui s'infecte. Traitée par la dose ordinaire d'atoxyl, elle n'en retire aucun bénéfice. Pour les 3 premiers passages par souris (4, 10 et 17 avril), on attend, pour prendre les trypanosomes, le résultat (nul ou presque nul) de l'injection d'atoxyl ; nous avons en vue le renforcement de la résistance, manifeste dès la 1^{re} souris, de notre virus à l'atoxyl.

A partir de la souris du 17 avril, nous avons, dans une série que nous désignerons par la lettre R, conservé notre virus sur souris *en ayant soin de faire les passages avec des trypanosomes n'ayant été soumis à aucun médicament*. Une seule exception est à noter : la 5^e souris de passage (en donnant le n° 1 à celle du 17 avril) a été traitée par l'acide arsénieux et la 6^e souris a été faite avec les trypanosomes de rechute de ce traitement ; mais comme nous prouverons la quasi-indépendance d'action de (As³O³) et de l'atoxyl, cela importe peu ; il suffirait d'ailleurs de retrancher 5 à notre chiffre de passages.

Nous avons conservé la série R pendant près d'un an ; elle avait atteint, le 2 mars 1908, date à laquelle nous l'avons abandonnée, son 90^e passage par souris.

Une variété de la même race, que nous appellerons J, a été obtenue en faisant agir l'atoxyl sur les trypanosomes d'une souris du 6^e passage ; l'action du médicament a été faible (9 jours de retard sur le témoin ; les trypanosomes n'ont jamais complètement disparu de la circulation) ; les trypanosomes ont été pris sur cette souris 10 jours après l'injection d'atoxyl, alors qu'ils n'étaient plus sous l'action du médicament.

Cette variété diffère certainement peu de la précédente ; en tenant compte de cette intervention atoxylique, elle comporte 6 passages de moins par souris. C'est surtout avec elle que nous avons opéré ; nous l'avons gardée, sans nouveau contact avec l'atoxyl, jusqu'à son 140^e passage (5 septembre 1908).

Enfin, nous avons expérimenté aussi avec le virus précédent dont nous avons essayé de renforcer la résistance.

Nous sommes partis le 13 janvier 1908 de la 68^e souris de passage du virus J. Une lignée latérale est instituée et, aux souris 1, 2, 4 et 5, on injecte de l'atoxyl un certain temps avant de prélever le virus pour le passage suivant. A partir de la 6^e souris (1^{re} de la série J₁), on ne donne plus d'atoxyl.

Nous avons conservé cette série depuis le 2 février jusqu'au 5 septembre 1908 à travers 67 passages par souris.

Pour la variété R, l'atoxyl, à la dose la plus élevée possible, s'est montré sans action aux 1^{er}, 3^e, 4^e, 49^e, 50^e, 52^e, 86^e et 88^e passages par souris. Aux 7^e, 9^e et 20^e, la souris n'a eu qu'un retard de 24-48 heures, 3 jours au plus. Aux 2^e, 5^e, 6^e, 14^e passages, l'atoxyl a fait diminuer le nombre des trypanosomes, arrivant même à les faire disparaître momentanément de la circulation en 2 à 4 jours ; la souris a eu alors un retard de 6 à 10 jours sur le témoin.

Pour la variété J, l'atoxyl a été sans action aux 3^e, 41^e, 42^e, 60^e, 69^e, 80^e, 82^e (chez 3 souris), 125^e passages, presque sans action aux 1^{er}, 2^e, 12^e, 59^e, 66^e, 89^e passages. Aux 63^e, 68^e et 124^e, les trypanosomes ont disparu de la circulation en 3 à 5 jours et le retard sur le témoin a atteint 10 jours.

Enfin, la variété J, s'est toujours montrée particulièrement résistante ; l'action de l'atoxyl a toujours été nulle ou presque nulle ; le retard le plus long a été de 4 jours.

Si nous ajoutons que le Dr Lafont a constaté que l'atoxyl guérissait d'emblée presque toutes les souris infectées avec son virus de Maurice, la résistance acquise du virus apparaîtra encore plus nettement.

On voit qu'à diverses reprises nos races ont montré une certaine sensibilité à l'atoxyl. Ces légères exceptions se sont manifestées irrégulièrement dans la série des passages ; pour la variété R tout au moins, elles paraissent avoir été plus fréquentes au début que plus tard. Dans tous les cas, elles n'indiquent nullement un retour de la race à sa sensibilité initiale à l'atoxyl et s'expliquent sans doute par des particularités individuelles des souris infectées.

Ehrlich et Browning ont noté, de leur côté, une certaine sensibilité de leur race quand on nourrit les souris infectées avec des cakes imprégnés d'atoxyl.

Nos 3 lignées, au moment où nous les avons abandonnées, étaient aussi résistantes qu'au début. Or nous avons conduit l'une d'elles jusqu'à son 140^e passage par souris. Nous pouvons même dire que nous avons atteint un chiffre plus élevé, car nos lignées résistantes à l'émétique, que nous possédons encore, dérivent de celles résistantes à l'atoxyl et nous avons vérifié qu'elles continuent à se comporter comme auparavant vis-à-vis de l'atoxyl.

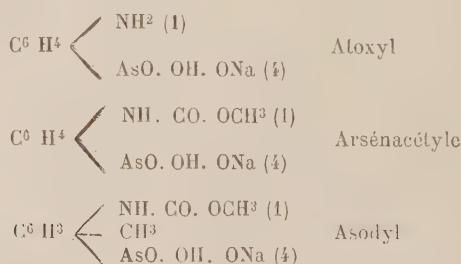
III

SPÉCIFICITÉ DES RACES RÉSISTANTES A L'ATOXYL

Ehrlich et ses collaborateurs ont montré la spécificité relative de leurs races : la résistance se manifeste pour tous les médicaments d'un même groupe chimique (par ex. : couleurs de benzidine, série du triphénylméthane) et non pour tous ceux d'un autre groupe. Ehrlich en donne un exemple frappant pour sa race résistante au Trypanrot ; il montre qu'elle est résistante à la couleur « Ph » de Nicolle et Mesnil qui pourtant diffère du Trypanrot à la fois par le composé basique (paradiamidodiphénylurée au lieu de benzidine monosulfonée) et par les chaînes latérales (acide H, c'est-à-dire amidonaphtol disulfo 1. 8. 3. 6, au lieu de β naphtylamine disulfo 2. 3. 6. = acide R).

Pour leur race résistante à l'atoxyl, Ehrlich et Browning se contentent de montrer qu'elle est également résistante au dérivé acétylé de l'atoxyl (arsénacétyle) que Ehrlich et Bertheim ont préparé et dont ils ont montré l'action remarquable (que nous pouvons confirmer) sur le Nagana des souris.

Notre arsénacétyle (1), essayé sur plusieurs souris infectées avec les virus R et J, à la dose de 2 centigrammes par 20 grammes de souris, s'est comporté exactement comme l'atoxyl lui-même. Il a eu une action nulle sur le 18^e passage R et le 11^e J, très faible sur les 9^e, 16^e et 19^e passages R ; il amène les trypanosomes à disparaître momentanément en 2 et 4 jours avec les passages 6^e J et 5^e R (à ce passage, l'atoxyl a aussi fait disparaître les trypanosomes en 4 jours).



Le méthylacétylamidophénylarsinate de Na, dénommé *asodyl* par la maison Burroughs Wellcome et C^{ie} de Londres qui le prépare (2), s'est comporté un peu différemment.

(1) Nous devons ce corps à l'obligeance de MM. G. Bertrand et Lanzenberg, qui, peu de temps après l'apparition du travail d'Ehrlich, nous en avaient préparé une solution neutralisée par la soude.

(2) Un échantillon de ce corps nous a été remis par l'intermédiaire de M. Giard.

Essayé sur le 124^e passage (virus J), 1 gramme d'asodyl (pour une souris de 14 grammes) fait disparaître les trypanosomes en plus de 24 heures ; *ils ne reparaissent plus*. Une autre souris du même lot traitée à l'atoxyl (0 cgr. 3 pour 10 grammes) voit ses trypanosomes disparaître en 3 jours ; elle meurt avec 10 jours de retard sur le témoin.

Dans une expérience, en se servant du virus J, au 60^e passage, alors que l'atoxyl (0cgr.3 pour 17 grammes) n'agit pas du tout, l'asodyl (1cgr,5 pour 20 grammes) fait tomber les trypanosomes à 0 en 24 heures ; il y a rechute au bout de 6 jours. En revanche, le même virus J n'a été qu'à peine influencé par l'asodyl dans une autre expérience où 1 centigramme (pour une souris de 15 grammes) n'a donné à l'animal qu'une survie de 60 heures.

De même, nous avons vu l'asodyl employé vis-à-vis de notre virus résistant à l'atoxyl et à l'émétique, donner, dans une expérience, un retard de 11 jours sur la souris témoin et celle traitée à l'atoxyl ; dans une autre expérience, un retard insignifiant sur le témoin.

Il résulte donc de cet ensemble d'expériences que les races résistantes à l'atoxyl peuvent encore montrer une certaine sensibilité à l'asodyl.

Une question beaucoup plus intéressante est celle de la sensibilité aux sels minéraux d'arsenic (arsénites, trisulfure) des races résistantes à l'atoxyl. Ehrlich et Browning ne disent pas nettement avoir abordé la question (1). Elle est devenue d'actualité il y a un an, quand Loeffler et Rühs (2), confirmés depuis, à cet égard, par Weber et Fürstenberg (3), ont insisté sur les avantages de la médication combinée atoxyl-acide arsénieux, — et Laveran et Thiroux (4) sur l'association atoxyl-trisulfure d'arsenic (soit colloïdal, soit en pilules d'orpiment). Elle permet aussi d'apporter un argument important dans la question de savoir si l'atoxyl agit ou non comme arsenical.

Pour le trisulfure d'arsenic que nous avons employé à l'état

(1) Dans sa 3^e *Harben Lecture*, EHRLICH, parlant des expériences faites avec sa race résistante à l'atoxyl, s'exprime ainsi : *Among hundreds of trypanocidal bodies, it is thus possible to single out those substances which contain arsenic*. Plus loin, revenant sur la question, il dit : Le radical acide arsénieux représente ici le point d'attaque commun aux séries de substances de la classe de l'atoxyl. — LOEFFLER ET RÜHS, à la fin de leur 1^{er} mémoire (*Deutsche mediz. Woch.*, n° 34, 1907), s'expriment ainsi : *Tiere, die mit Atoxyl lange Zeit, aber vergeblich behandelt und an relativ grosse Dosen des Atoxyls gewöhnt waren, haben prompt auf die neue Lösung (solution d'arsénieux dans l'eau salée neutre) reagiert*.

(2) *Deutsche mediz. Woch.* 1907, n° 34 ; 1908, n° 1 ; et aussi LOEFFLER, RÜHS ET WALTER, *Ibid.*, 1908, n° 34.

(3) *Deutsche mediz. Woch.*, 1908, n° 28.

(4) *G. R. Acad. Sciences*, 4 nov. 1907, et *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXII, 25 février 1908.

de solution colloïdale (aimablement fournie par M. Victor Henri), les résultats ont été des plus nets. Nous avons surtout opéré avec le virus J vers le 60^e passage. L'arsenic colloïdal, employé à la dose de 0 c. c. 35 d'une solution à 20/00 sur une souris de 20 grammes, fait disparaître les trypanosomes tantôt en moins de 24 heures, tantôt entre 24 et 48 heures. Certaines souris ainsi traitées ont guéri, d'autres ont eu des rechutes. En tout cas, les résultats ont été exactement les mêmes qu'avec notre Surra de l'Inde, qui est une race sensible à l'atoxyl. Il n'y a donc pas de doute, à notre avis, que les races résistantes à l'atoxyl ne le sont pas au trisulfure colloïdal.

Pour l'acide arsénieux, que nous avons employé soit à l'état d'arsénite de Na, d'après la formule qui a servi aux expériences anciennes de Laveran et Mesnil (1), soit à l'état de solution suivant la formule de Loeffler et Rühs, nos résultats sont moins nets. A la vérité, ces solutions ont rarement débarrassé le sang de ses trypanosomes et nous n'avons obtenu que des survies plus ou moins longues sur les témoins. Mais, comme les résultats ont été les mêmes avec le Surra de l'Inde et avec le Surra résistant à l'atoxyl, nous croyons pouvoir encore émettre la même conclusion que dans le cas du trisulfure, avec une certaine réserve, néanmoins (2).

Ces résultats expliquent donc les avantages des associations d'atoxyl (ou un autre corps de la série) avec un sel minéral d'As. Ils viennent à l'appui de la manière de voir formulée par Moore, Nierenstein et Todd (3) d'une part, Fourneau (4) de l'autre, que l'activité de l'atoxyl ne ressort pas d'un ion arsenical inorganique libre, mais d'un ion complexe contenant à la fois les radicaux arsenic et aniline.

Nous avons encore essayé sur notre race la couleur de benzdine » Cl » (dichlorobenzidine + acide H), à plusieurs reprises : pendant la constitution de la variété R ; aux 2^e et 5^e passages de cette variété ; au 59^e passage de la variété J. Dans tous les cas, les trypanosomes ont disparu dans le temps normal et, comme c'est

(1) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XVI, 25 nov. 1902.

(2) *In vitro*, l'acide arsénieux est peu toxique pour les Trypan. En solution dans l'eau physiologique à 1 p. 1000 ou 1 p. 2000, mélangée à parties égales avec du sang à Trypan., il immobilise les parasites en 5 à 10 minutes, qu'il s'agisse d'une race résistante à l'atoxyl, ou d'une race normale.

(3) *Biochemical Journ.*, t. II, n° 5, 1907.

(4) *Bull. Sciences pharm.*, n° 6, juin 1907.

la règle dans le Surra des souris, n'ont jamais reparu ; il y a eu guérison d'emblée.

Enfin, il y avait un intérêt théorique et pratique tout particulier à essayer la sensibilité de notre race à l'émétique de K (dont nous venions de découvrir l'action). Notre première conclusion fut « qu'elle se comporte, vis-à-vis de l'émétique, exactement comme la race de Surra de l'Inde, qui est une race normale. En particulier, dans les 2 cas, la disparition des trypanosomes du sang a lieu en moins de 2 heures (1) ».

Une expérience plus étendue nous a amené à une légère atténuation de cette manière de voir : alors qu'on guérit à coup sûr les souris infectées de Surra de l'Inde, nous avons eu 2 échecs sur 22 cas avec la race résistante J et 2 échecs sur 3 cas avec la race renforcée J, (2). Plimmer et Bateman (3) ont noté de leur côté que, en se servant de trypanosomes résistants à l'atoxyl, il y a encore action de l'émétique, mais les résultats sont moins bons qu'avec une race ordinaire.

En définitive, la sensibilité de nos races à l'émétique n'est guère moindre que celle des races ordinaires de Surra. C'est là un fait intéressant à mettre en évidence si l'on songe à la parenté chimique de l'arsenic et de l'antimoine. A un autre point de vue, il y a là, comme nous le faisons remarquer dès notre première communication sur l'action de l'émétique, une raison théorique à associer l'émétique à l'atoxyl dans le traitement des trypanosomiasés ; en tout cas, il n'y a aucune contre-indication à tenter l'émétique quand l'atoxyl n'agit pas ou n'agit plus.

IV

RACE DE SURRA RÉSISTANTE A L'ÉMÉTIQUE (4)

Dès le début de nos recherches sur l'action thérapeutique de l'émétique de potassium dans plusieurs trypanosomiasés, nous avons visé l'obtention d'une race de trypanosomes résistante à ce médicament. Les rechutes étant fréquentes chez les souris gagnées ainsi traitées, nous pensions que ce problème serait facile-

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. I, 22 janv. 1908.

(2) *Ibid.*, 8 avril 1908.

(3) *Proc. Roy. Soc.*, communic. du 25 août 1908.

(4) MESNIL ET BRIMONT, *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, 9 mai 1908.

ment résolu avec le *Trypanosoma brucei*; nous avons bien constaté à diverses reprises qu'à la suite d'interventions médicamenteuses répétées les trypanosomes n'étaient plus influencés par l'émétique; mais, reportés sur une autre souris, ils manifestaient la même sensibilité que le virus ordinaire. C'est là un nouvel exemple de ces faits déjà fournis par l'étude de l'atoxyl que la résistance acquise à un médicament n'est pas toujours héréditaire.

Nous avons été plus heureux en partant de notre virus Surra de Maurice, au moment où nous renforçons sa résistance à l'atoxyl (voir ci-dessus variété J₁).

Une souris, infectée avec ce virus et traitée par l'émétique au moment où ses trypanosomes étaient excessivement nombreux, présenta des rechutes de plus en plus rapprochées (6 jours, 5 jours, 3 jours, 4 jours); la 5^e injection fut sans effet sur les trypanosomes qui, inoculés à des souris de passages, gardèrent héréditairement leur résistance au médicament. (Pour la 3^e souris de passage, le virus a été prélevé sur la seconde 24 heures après l'injection d'émétique). Encore aujourd'hui (12 octobre 1908), au 70^e passage par souris, la propriété acquise de notre virus reste entière. Donné à la dose la plus élevée possible (0mgr,40 à 0,45 pour 20 grammes de souris), l'émétique est sans influence sur la marche de l'infection. Sauf sur une souris du 7^e passage, chez laquelle les trypanosomes sont tombés à 0 en 48 heures et qui a eu une survie de quelques jours, nous n'avons pas observé les légères exceptions que nous signalions chez les souris infectées de trypanosomes résistants à l'atoxyl et soumises à ce médicament.

Préventivement, l'émétique n'a aucune action sur les trypanosomes résistants. En raison de l'action parasiticide directe que ce médicament exerce sur les trypanosomes, les inoculations étaient faites en 2 régions différentes du corps :

Trypanosomes	Emétique.
Sous la peau du dos	Péritoine.
id.	Cuisse.
Péritoine.	Peau du dos.

Les souris ainsi injectées sont mortes comme les témoins. Dans de pareilles conditions, l'émétique empêche toute infection par le Surra non résistant.

Nous avons aussi cherché à renforcer la résistance à l'émétique de notre race.

Une souris du 21^e passage, infectée du virus résistant, reçoit, alors qu'elle renferme des trypanosomes nombreux, 0,4 milligrammes d'émétique; le lendemain, on porte le virus sur une autre souris et, à partir du moment où

les trypanosomes sont assez nombreux, on injecte à cette souris, 4 jours consécutifs, une forte dose (0,35 milligrammes pour 14 grammes) d'émétique ; au moment de la mort, on fait un nouveau passage ; nous sommes actuellement au 45^e passage (variété E₁).

Dans toutes les expériences dont nous avons rendu compte, comme dans celles d'Ehrlich et de ses collaborateurs, la résistance d'une race à un médicament est appréciée seulement *in vivo*. Il était naturel de songer à l'apprécier aussi *in vitro* et une pareille pensée ne pouvait manquer de venir à l'esprit d'Ehrlich. Il en parle dans la note de la p. 33 de ses « Etudes de chimiothérapie des trypanosomiasés », en exprimant le regret de n'avoir pu la réaliser (1). Plus tard (2), partant d'une race résistante à l'atoxyl, il a renforcé cette résistance en se servant d'une nouvelle combinaison arsenicale très active qu'il appelle *trypocide*, et qui agit *in vitro* à des concentrations de 1 p. 500. Or, les trypanosomes résistants *in vivo* à ce trypocide, sont *plus sensibles* à ce composé que les trypanosomes normaux. Ehrlich pense qu'il y a eu, chez les trypanosomes, vis-à-vis du trypocide, développement simultané d'immunité (constatable *in vivo*, et d'hypersensibilité (constatable *in vitro*).

L'émétique a, contrairement à l'atoxyl et aux couleurs de benzidine, la propriété d'agir énergiquement *in vitro* sur les trypanosomes. Par exemple, les trypanosomes appartenant à une race de *Suirra* non résistante à l'émétique, sont immobilisés instantanément quand on mélange à parties égales du sang trypanosomié et une solution d'émétique pulvérisé à 1 0/00 dans l'eau physiologique citratée.

Notre découverte de races résistantes à l'émétique a pu nous permettre de démontrer que *la vaccination du Trypanosome se traduit par une plus grande résistance in vitro*. Une constatation analogue a été faite plus tard, avec notre race résistante à l'atoxyl, par l'un de nous (Brimont) en collaboration avec Levaditi et Yamanouchi, en se servant du *trypanotoxyl* découvert par ces deux savants (3) ; ce qui a fourni une des meilleures preuves

(1) « ... Ein Teil der Substanzen, z. B. das Atoxyl, auf die Parasiten im Reagensglase keine direkt abtötende Wirkung ausübt, während andere, z. B. die Fuchsin, zwar diese Fähigkeit besitzen, aber in den nichtsterilisierenden Dosen eine sehr störende Abschwächung der Parasiten hervorrufen. »

(2) Voir *The Harben Lectures for 1907*, édition parue à Londres en mai 1908, p. 51-52.

(3) LEVADITI et YAMANOUCHI, *C. R. Soc. Biologie*, t. LXV, 4 juill. 1908, p. 23 ; LEVADITI, BRIMONT et YAMANOUCHI, *Ibid.*, p. 25.

que ce trypanotoxyl (produit de réaction du foie sur l'atoxyl) est bien le principe actif de l'atoxyl dans l'organisme.

La constatation *in vitro* de la résistance ou de la vaccination d'un trypanosome a, au moins dans le cas de l'émétique, un autre intérêt. C'est qu'elle permet d'avoir une idée approchée de la résistance réelle d'une race de trypanosomes. Sensibilité et résistance à un médicament ne sont en effet que des termes d'appréciation; ils n'ont qu'une valeur relative qu'il est bon de pouvoir évaluer.

In vivo, en effet, il est impossible d'apprécier la résistance réelle qu'a acquise la race de trypanosomes. La dose efficace qui fait disparaître les trypanosomes ordinaires de l'organisme infecté ne peut guère être augmentée, car on arrive immédiatement à la limite de tolérance de l'organisme devant l'émétique. Tout au plus, peut-on, *in vivo*, avec les trypanosomes ordinaires, établir le rapport entre la dose efficace d'émétique qui les tue et la dose maxima qui n'agit plus sur eux.

Avec l'émétique, ce rapport est de 10 environ.

Une souris de 15 grammes, infectée de Surra de l'Inde, ne recueille aucun bénéfice de l'injection de 0mgr,03 d'émétique; une autre du même poids guérit d'emblée par l'injection de 0mgr,30; il en est de même d'une souris qui ne reçoit que 0mgr,1. Or, la dose de 0mgr,30 (= 10 fois la dose non active vis-à-vis du virus ordinaire) est la dose maximale que l'on peut donner à une souris de 15 grammes à virus résistant.

On obtient le même rapport 10 avec l'atoxyl.

In vitro, l'inconvénient signalé *in vivo* n'existe plus. On comparera alors les doses de médicament qui immobilisent dans le même laps de temps, d'une part les trypanosomes ordinaires et d'autre part les trypanosomes résistants. Il est bon d'opérer avec des parasites prélevés au moins vingt-quatre heures avant la mort de l'animal infecté; quand ils sont extrêmement nombreux dans le sang, ils deviennent, comme on le sait, beaucoup plus fragiles. Il est encore indiqué d'opérer avec des solutions agissant en un temps aussi court que possible. Les trypanosomes ont en effet des résistances individuelles assez variables; donc, moins la solution employée est concentrée et par conséquent plus la durée d'action est longue, plus les causes d'erreur sont possibles. Le mieux serait d'opérer avec des solutions immobilisant instantanément les trypanosomes, mais nous avons été arrêtés par la trop

grande résistance de notre nouvelle race aux solutions les plus concentrées dont nous nous sommes servis.

En tenant compte de ces remarques, les résultats obtenus acquièrent une grande constance, qui prouve la valeur de la méthode.

Avec la race initiale résistante à l'atoxyl, mais pas à l'émétique, on a les résultats suivants :

4 gtte sang à trypan.	+ 4 g. émétique à 1 p. 1000	Immobilisation immédiate.
4 Id.	+ 4 Id.	+ 4 goutte eau cit. . . Imm. en 20 à 40 min.
4 Id.	+ 4 Id.	+ 4 g. eau cit. . . Imm. en 1 h. à 1 h. 1/4.
4 Id.	+ 4 Id.	+ 5,8 ou 12 g. eau cit. Imm. en 1 h. 1/2 à 1 h. 3/4.

Les Trypanosomes conservés en eau citratée restent très mobiles tout le temps que dure l'expérience.

Les résultats sont les mêmes avec les virus Surra de l'Inde et Surra de Nha-Trang (Annam), Nagana du Togoland et du Zoulouland, qui ne montrent aucune résistance particulière aux médicaments.

Avec la race résistante à l'émétique, l'addition de 1 goutte d'émétique à 1 0/00 à 1 goutte de sang est sans action sur les trypanosomes. Avec cette race, nous avons surtout employé une solution isotonique au sang, titrée à 5 grammes d'émétique pour 1000 d'eau salée citratée :

Émétique : 0,50 ; — NaCl : 0,42 ; — Citrate de Na : 4 ; — Eau : 100.

1 g. sang à trypan.	+ 1 gtte émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 1 heure en moy.
1 g. sang à trypan.	+ 5 g. émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 45 min. en moy.
1 g. sang à trypan.	+ 10 g. émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 25 min. en moy.
1 g. sang à trypan.	+ 15 g. émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 15 min. en moy.
1 g. sang à trypan.	+ 20 g. émétique à 5 p. 1000.	Immob. en 15 min. en moy.
1 g. sang à trypan.	+ 30 g. émétique à 5 p. 1000.	Immob. immédiatement.

Avec la race à résistance renforcée (E_1), même en ajoutant 40 gouttes de la solution, on n'obtient pas l'immobilisation immédiate des trypanosomes.

Nous nous sommes servis aussi d'une solution d'émétique de K dans l'eau distillée à 5 ou 6 0/00; elle est à peu près isotonique au sang. En mélangeant goutte à goutte le sang à trypanosomes et la solution en question, on obtient l'immobilisation en 5 minutes avec la variété E, en 8 minutes avec la variété E_1 . Il faut encore employer 8 à 10 gouttes d'émétique pour arriver à l'immobilisation immédiate.

Si l'on compare les titres et les quantités des solutions qui donnent l'immobilisation immédiate, on arrive à un chiffre au

moins égal à 300 que nous pouvons regarder comme la *mesure de la résistance*.

Les comparaisons d'actions immobilisantes au bout de temps égaux (vingt-cinq minutes par exemple) donnent des chiffres moins élevés. Mais nous pouvons dire que la résistance de notre race est au moins égale à 150.

En possession de cette méthode, il est possible de suivre les variations d'une race, d'assister à sa genèse et, par suite, de chercher à l'enrayer.

On a remarqué que la race résistante à l'atoxyl était aussi sensible à l'émétique qu'une race ordinaire de Surra. Les résultats *in vitro* concordent donc avec ceux obtenus *in vivo*.

Vis-à-vis de l'émétique de Na (dont nous devons un échantillon à la complaisance de M. Plimmer), notre race E se comporte *in vivo* et *in vitro* comme avec l'émétique de K.

APPENDICE — *Sensibilité naturelle de diverses espèces de trypanosomes à l'émétique*. — Nous avons, dans nos travaux spécialement consacrés à la thérapeutique des trypanosomiasés par l'émétique, insisté sur les différences au point de vue de la durée de disparition des trypanosomes. Mais avec presque tous les virus essayés, la désinfection du sang de souris était complète au bout de 2 heures. *In vitro*, ces trypanosomes sont détruits immédiatement quand on mélange 1 goutte de sang avec 1 goutte d'une solution à 1 0/0.

Dans le cas du *T. dimorphon*, les trypanosomes mettent plusieurs heures à disparaître du sang, et il y a toujours rechute rapide. L'essai *in vitro* n'a pourtant pas révélé une grande différence avec les autres virus; avec le *dimorphon* (et aussi avec le *congolense*, qui en est si voisin), le mélange indiqué immobilise en 1/2 minute.

La différence est plus importante avec le *T. pecaudi* (1). Le mélange ne produit l'immobilisation qu'en 10 à 15 minutes. Même le mélange à parties égales de sang et de la solution d'émétique à 5 0/00 n'immobilise qu'en 1 à 2 minutes; en ajoutant 3 gouttes à une goutte de sang, les trypanosomes sont arrêtés en une demi-minute. *In vivo*, l'émétique n'agit pas très bien sur les infections à *T. pecaudi*: désinfection du sang en plusieurs heures; rechute constante à 5 à 6 jours.

(1) Nous nous sommes servis d'un virus rapporté de Bakel par MM. Bouffard et Neveux et provenant de la rive gauche du Sénégal.

Le *T. lewisi*, conservé sur rats blancs, mérite une mention spéciale. Aucun médicament ne réussit à l'atteindre. Aussi n'avons-nous pas été très étonnés de constater qu'il en était de même de l'émétique. Même donné à la dose maxima pour le rat, il n'y a aucune action sur les trypanosomes, que l'on retrouve aussi nombreux dans le sang les jours suivants. *In vitro*, ce trypanosome est tout à fait comparable à notre race résistante.

- I 1 goutte de sang + 1 goutte émet. à 6 0/0. Immob. en 5 minutes.
- 1 goutte de sang + 5 gouttes émet. à 6 0/0. Immob. en 5 minutes.
- II. 1 goutte de sang + 1 goutte émet. à 5 0/0. Immob. en 7 minutes.

Ces faits illustrent bien le rapport entre la résistance naturelle ou acquise, *in vivo* et *in vitro* (1).

V

LES VIRUS RÉSISTANTS CHEZ LE RAT (2)

Les particularités des races résistantes à l'atoxyl chez la souris que nous avons signalées dans le § II de ce mémoire, semblent indiquer que la résistance a besoin pour se *manifester* d'une certaine participation de l'organisme. En portant le virus sur une autre espèce animale, ce phénomène va apparaître très nettement. Chez le rat en effet, la résistance, en particulier à l'atoxyl, se manifeste mal.

Par exemple, un rat de 170 grammes, infecté avec du virus J du 67^e pas sage, voit ses trypanosomes disparaître en 24 heures par une injection de 4cgr,25 d'atoxyl pour ne plus reparaitre. Chez deux autres rats de 175 et 230 grammes, infectés du même virus du 68^e pas sage, les trypanosomes disparaissent également en 24 heures à la suite d'injections de 4cgr,20 et 5cgr,50. Mais, dans ces cas, il convient de remarquer que la dose a été de 2cgr,50 par 100 grammes, ce qui est proportionnellement une dose un peu forte pour les souris. Pourtant, une souris témoin des 2 derniers rats, qui a reçu 0cgr,4 pour 17 grammes, n'a survécu que quelques heures à une souris non traitée.

(1) Ces recherches sur le *T. lewisi*, faites en juin dernier, postérieurement à la publication de notre note préliminaire, étaient restées inédites. BRODEN et RODHAIN, dans leur intéressant travail sur le traitement de la trypanosomiase humaine (*Arch. f. Sch. u. Trop. Hyg.*, t. XII, 2^e fasc. de juill. 1908), ont noté de leur côté, avec étonnement, disent-ils, la grande résistance *in vitro* du *T. lewisi* à l'émétique ; *in vivo*, les trypanosomes ont mis plus de 24 heures à disparaître de la circulation. Nous sommes persuadés qu'il y a eu coïncidence et que la disparition n'est pas due à l'émétique.

(2) MESNIL et BRIMONT, *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, 11 avril et 9 mai 1908.

La différence entre rats et souris apparaît donc déjà nettement. C'est pour chercher à la rendre encore plus évidente que nous avons constitué notre race renforcée (J_1) et que nous avons réduit à 2 cgr. pour 100 grammes la dose d'atoxyl. Dans ces conditions, alors que le virus se montrait plus rigoureusement résistant chez la souris, l'atoxyl a toujours amené la disparition des trypanosomes chez le rat, mais une certaine résistance s'est néanmoins manifestée : ainsi, les trypanosomes n'ont pas toujours disparu du sang en 24 heures : parfois, il a fallu un temps plus long ; il y a eu des rechutes fréquentes (tous les 3 à 6 jours) justiciables à la vérité d'un nouveau traitement ; finalement, le rat succombe après une série de rechutes. Certains ont pu être guéris par l'émétique.

En tout cas, la différence est frappante dans la façon dont se comporte le virus chez la souris, où l'atoxyl est en général totalement impuissant, et chez le rat où, d'une façon constante, il débarrasse le sang de ses trypanosomes pendant plusieurs jours.

Les rats chez lesquels nous avons fait agir l'atoxyl avaient été infectés : les premiers en partant des souris qui servaient à la préparation du virus J_1 et dont la résistance avait été déjà renforcée par 2 injections d'atoxyl ; les suivants étaient des rats de passage à partir des premiers. Nous avons ainsi conservé le virus sur rat jusqu'au 43^e passage, c'est-à-dire pendant 157 jours. Durant tout ce temps, le virus est resté semblable à lui-même au point de vue de sa résistance ; celle-ci s'est manifestée faiblement (*v. supra*) chez le rat, d'une façon ordinaire chez la souris. Cette dernière constatation est particulièrement intéressante et nous l'illustrerons par l'expérience suivante :

Le virus, au 40^e passage, est reporté sur souris.

Une souris de 13 grammes reçoit 0cgr,20 d'atoxyl et n'en recueille aucun bénéfice.

Une souris de 14 grammes reçoit 0cgr,25 d'atoxyl, et a 48 heures de survie sur le témoin.

(Le même atoxyl, à la dose de 0cgr,35 pour 18 grammes, guérit une souris infectée de Surra de l'Inde.)

En revanche, chez le rat au 41^e passage, l'atoxyl, à la dose de 1cgr,75 et de 2cgr,50 pour 100 grammes, fait disparaître les trypanosomes en 48 heures environ, et le sang reste débarrassé pendant plusieurs jours.

On pouvait se demander s'il existe chez le rat une impossibilité de nature organique à la manifestation de la résistance. Il n'en

est rien : la race a simplement besoin de s'habituer à l'atoxyl dans l'organisme même du rat. Nous sommes partis d'un rat du 2^e passage (v. ci-dessus). Ce rat a présenté des rechutes successives ; les 6 premières ont été justiciables de l'atoxyl ; mais à partir de la 7^e, 3 doses successives d'atoxyl n'ont pu en avoir raison. Ces trypanosomes portés sur d'autres rats et, par comparaison, sur d'autres souris, se sont montrés, chez les 2 espèces, résistants : la souris n'a pas survécu à son témoin ; le rat a montré une faible survie. Nous avons jugé inutile de prolonger les expériences.

Quand nous avons été en possession de notre race résistante à l'*émétique* chez la souris, nous avons cherché si elle la manifestait au même degré chez le rat. Dans ce cas encore, il y a des différences entre les deux Rongeurs.

Si on donne à un rat infecté 2 milligrammes d'*émétique* pour 100 grammes (ce qui est, proportionnellement au poids, la même dose que chez la souris), on voit les trypanosomes rester stationnaires comme nombre, puis diminuer (sans disparaître complètement) pour réaugmenter ensuite ; le rat meurt avec quelques jours de retard sur le témoin. Quand on porte la dose à 3 milligrammes par 100 grammes, on peut arriver à faire disparaître momentanément les trypanosomes de la circulation périphérique. La différence entre le rat et la souris est encore indéniable ; mais ici, la résistance, même chez le rat, est bien plus marquée que dans le cas de l'atoxyl.

La race résistante à l'atoxyl (J₁, 9^e passage par souris), portée sur le *chien*, y manifeste encore sa résistance.

1 centigramme d'atoxyl par kilogramme de chien n'a aucune action sur les trypanosomes.

En portant le même virus, au 15^e passage, sur un autre chien, on obtient le même résultat négatif en donnant la dose indiquée, à 2 reprises. [A la vérité, cette dose de 1 centigramme par kilogramme est relativement faible ; mais on ne peut guère la dépasser, étant donnée la grande sensibilité des chiens à l'atoxyl, déjà mise en relief dans le mémoire fondamental de Thomas.]

Chez le *cobaye*, on observe des faits analogues.

L'atoxyl est donné à la dose de 1cgr,5 pour un cobaye de 400 à 450 gr. Cette dose fait régulièrement disparaître les trypanosomes du Surra de l'Inde (race non résistante) en moins de 24 heures et la rechute survient très tardivement. Chez les cobayes inoculés avec le virus J₁, nous avons constaté qu'une première dose ne faisait jamais disparaître les trypanosomes en 24 heures, mais toujours en 48 heures (1) et que les doses suivantes ne les faisaient même plus disparaître du tout.

(1) Ce résultat, obtenu 4 fois sur 4, n'est peut-être pas dû à un hasard de coïncidence avec une crise. Il indiquerait une faible sensibilité, non comparable, en tout cas, à celle que l'on observe chez le rat, car, aux injections suivantes, l'atoxyl ne fait plus disparaître les trypanosomes.

Repris chez le *chien*, le trypanosome a conservé toute sa résistance chez la souris.

Ces résultats, brièvement indiqués dans nos notes préliminaires, en particulier la première, ont été depuis confirmés par les publications de l'École de Liverpool.

Moore, Nierenstein et Todd (1), en se servant d'une race de *T. brucei* envoyée par Ehrlich, ont constaté, indépendamment de nous, que sa résistance à l'atoxyl (et à l'arsénacétyle), manifeste chez la souris, ne l'est plus chez le rat. Une race, obtenue résistante à l'atoxyl chez le rat, ne l'est ni chez la souris ni chez le chien.

Breinl et Nierenstein (2) citent de leur côté des faits de même ordre. On produit assez facilement (en moyenne après 3 mois $1/2$ de traitement) des races résistantes à l'atoxyl chez les ânes. Une pareille race, portée chez le rat, s'est montrée faiblement résistante au 1^{er} passage, plus du tout au second. Reportée sur âne après 14 passages par lapins, cobayes et rats, elle s'y est montrée à nouveau résistante. On n'a pu faire disparaître les trypanosomes qu'en employant l'émétique de sodium.

Ces savants croient qu'une race ne manifeste sa résistance à l'atoxyl que chez l'espèce animale dans laquelle elle a été créée. Nos observations ne corroborent pas cette manière de voir. Elles montrent que la résistance acquise chez le cheval se manifeste *de suite* chez la souris et y atteint même un maximum au-dessus duquel l'évaluation n'est plus possible, eu égard à la limite de toxicité de l'atoxyl. Chez le cheval, un pareil maximum n'était pas atteint puisqu'on a pu faire disparaître à nouveau les trypanosomes en augmentant la dose. En plus, nous avons vu que la résistance ne se manifeste pas que chez la souris.

Si les résultats de Liverpool étaient exacts, il serait extrêmement difficile, sinon impossible, de se rendre compte expérimentalement si, comme conséquence d'un traitement, la résistance à un médicament apparaît. Une pareille recherche aurait pourtant un haut intérêt chez un homme atteint de trypanosomiase et qu'on soumet à un long traitement. Ehrlich a bien supposé que c'est à l'apparition d'une résistance à l'atoxyl que sont dus les échecs finaux de Kopke et celui-ci s'est rallié à cette conception.

(1) *Ann. of trop. Med. a. Parasit.*, t. III, juill. 1908.

(2) *Deutsche mediz. Woch.*, 1908, n° 27.

A vrai dire, c'est là une hypothèse fort plausible, mais toute gratuite. Il serait bien intéressant de savoir si oui, ou non, elle peut être soumise au contrôle de l'expérience.

Quoi qu'il en soit de ces divergences, nos résultats, sur un point qui nous paraît capital au point de vue biologique, s'accordent avec ceux de Liverpool. *Une race résistante chez une espèce donnée* (pour nous la souris, pour eux l'âne) *reste résistante même après un grand nombre de passages par une ou plusieurs espèces chez lesquelles la résistance ne se manifeste pas ou se manifeste incomplètement.* Il faut nécessairement en conclure que *la résistance est une propriété biologique liée au trypanosome.* (Cette propriété apparaît d'une façon concrète dans les expériences *in vitro* avec les races résistantes à l'émétique.) Nos expériences comparées chez le rat et la souris prouvent en plus que le milieu-hôte a une grande importance ; pour être exact, il faut dire que la race est résistante *dans un organisme donné.*

Il doit donc y avoir participation de l'organisme pour la manifestation de cette résistance. Dans notre première note où nous n'envisagions que le cas de la résistance à l'atoxyl, nous avons rapproché nos constatations de ce fait que « l'atoxyl n'agit pas directement sur les trypanosomes à la façon d'un antiseptique et que la trypanolyse n'a lieu qu'à la suite d'une participation de l'organisme ». Depuis, Levaditi et Yamanouchi ont précisé dans une certaine mesure cette participation de l'organisme en montrant que l'extrait de foie transformait l'atoxyl, inactif *in vitro* sur les trypanosomes (comme Mesnil et Nicolle l'ont dit les premiers), en un corps très actif. Les trypanosomes, vaccinés contre le trypanotoxyl fabriqué dans le corps de la souris, peuvent ne pas l'être contre celui du rat. Pourtant, nous devons dire que cette manière de voir ne doit renfermer qu'une part de vérité puisque le phénomène de *la différence de résistance suivant l'espèce animale* est encore apparent, bien qu'à un moindre degré, avec les races résistantes à l'émétique et il s'agit dans ce cas d'un médicament qui paraît n'avoir guère besoin de la participation de l'organisme pour manifester son action.

VI

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Nous possédons, depuis le début d'avril 1907, une race résistante à l'atoxyl que nous conservons encore sous sa forme résistante à l'émétique ; cela fait, au 1^{er} novembre 1908, 17 mois et en tout plus de 150 passages par souris. Or chaque passage représente un certain nombre de bipartitions successives de trypanosomes qui ne peut être moins de 5, mais que l'on peut *supposer* être au moins 10 (1). Par conséquent, les 150 passages nous donnent *au moins* 1,500 bipartitions ou générations successives. Depuis que la race est résistante à l'émétique, il s'est accompli la moitié de ce chiffre de bipartitions.

Ehrlich, au début de 1907, avait, entre autres, une race résistante à la parafochsine depuis 18 mois qui en était à son 180^e passage par souris et une autre résistante à l'atoxyl depuis 15 mois qui en était à son 138^e passage.

Ehrlich, le premier, a parlé, pour ces races résistantes, d'hérédité de caractères acquis. L'assimilation nous paraît exacte. Mais, pour la rigueur, il convient de ne tenir compte que du chiffre de générations successives de trypanosomes n'ayant plus eu de contact avec le médicament. A cet égard, nous pouvons citer notre race J que nous avons conservée, toujours résistante à l'atoxyl, à travers 125 passages au moins par souris, ce qui représente plus de 1,250 générations de trypanosomes et notre race E qui n'a cessé d'être résistante à l'émétique à travers 70 passages par souris. Ehrlich cite le cas d'une race qui avait conservé sa résistance à l'atoxyl à travers 103 passages par souris ; c'est sans doute la même que Browning cite comme étant à son 150^e passage.

A côté de ces cas, il en est d'autres, comme ceux de notre race de *gambiense*, résistante à la couleur Ph, et comme ceux de diverses races, citées par Ehrlich, lesquelles, après un certain nombre de passages, perdent leur résistance.

(1) En admettant que *tous* les trypanosomes injectés avec le 20^e de c. c. de sang qui, en général, sert à faire un passage, évoluent pour donner les trypanosomes aussi nombreux dans les 2 c. c. de sang d'une souris, on a un rapport de 40 qui est voisin de la puissance 5^e de 2. Ce chiffre de 5 peut être voisin de la réalité quand on pratique des inoculations intrapéritonéales ; il ne l'est certainement pas quand on fait les inoculations sous la peau, comme c'était notre cas.

Etant donné le grand nombre de générations déjà atteint par certaines races, on a le droit de parler de races stables conservant indéfiniment les caractères acquis en l'absence de la cause agissante. Ehrlich les compare aux Oscillariées étudiées par Engelmann et Gaidukow, lesquelles, en poussant en lumière colorée, acquièrent des caractères de couleur qu'elles reproduisent héréditairement dans leurs nouveaux articles quand on les remet en lumière blanche. La comparaison mérite aussi d'être faite avec les vaccins pastoriens, le charbon asporogène, etc. Nous la poursuivrons dans un prochain mémoire avec les microbes (et en particulier les trypanosomes) vaccinés contre des anticorps.

Un autre caractère mis en évidence par Ehrlich est que les animaux infectés par une de ces races n'ont, durant la période qui suit immédiatement la désinfection de l'organisme par un médicament, l'immunité que pour la race en question. On a là affaire à des espèces secondaires et il serait intéressant de connaître les conditions exactes de leur genèse. La propriété de résistance semble apparaître graduellement et non brusquement. On n'aurait donc pas affaire à ces mutations dont on a déjà signalé un certain nombre d'exemples chez les microbes (1) ; mais de nouvelles recherches dans cette voie sont encore indiquées.

Remarquons enfin que les générations de trypanosomes qui se succèdent chez les animaux de passage sont asexuées. Peut-être cette particularité contribue-t-elle à la conservation du caractère. Ehrlich s'est demandé ce qu'il adviendrait de ces races en passant par l'hôte intermédiaire. Nous posons la même question en faisant remarquer qu'il est au moins possible qu'intervienne une reproduction sexuelle chez cet hôte, Glossine ou autre insecte.

(1) R. KOCH (*Deutsche mediz. Woch.*, 17 nov. 1904) pense que les trypanosomes pathogènes (*T. brucei*, *evansi*, *equinum*, *gambiense*) sont des espèces non fixées, en voie de *mutation*, au sens de DE VRIES. Cette assimilation aux faits de de Vries nous paraît fort discutable.

L'Aldéhyde acétique dans le vin : son origine et ses effets.

(Suite et fin.)

PAR M. A. TRILLAT

TROISIÈME PARTIE

Rôle de l'aldéhyde acétique dans quelques modifications du vin : Vieillissement, jaunissement et amertume

I. VIEILLISSEMENT

L'analyse d'un vin vieux démontre que sa composition a beaucoup varié. Le poids de ses matières fixes a diminué ainsi que l'alcool, tandis que ses éthers ont augmenté. Le vieillissement du vin est en outre accompagné d'un dépôt plus ou moins abondant de matière colorante, en même temps que d'une décoloration et d'un virage de la teinte primitive.

La réunion des substances volatiles qui se sont formées au cours du vieillissement dans les vins et les eaux-de-vie constitue ce qu'on appelle *le bouquet*. On ne sait jusqu'à présent rien de précis, ni sur sa composition, ni sur les réactions chimiques qui lui ont donné naissance. Il est connu cependant que le parfum du bouquet dépend d'un grand nombre de facteurs qui entrent en jeu, tels que le cépage, le mode de vinification, la composition du moût, etc. D'après Rosenstiehl¹ le bouquet des vins subirait l'influence de la température de stérilisation du moût et de la fermentation.

Pasteur a montré que le vin ne vieillissait pas lorsqu'on le maintenait à l'abri de l'air. D'après lui, l'oxydation en bouteilles provient uniquement de l'air en dissolution dans le vin à la faveur des soutirages antérieurs à la mise en bouteilles. Il en concluait que la combinaison de l'oxygène avec le vin était

1. ROSENSTIEHL, *C. R. de l'Ac. des Sc.*, 1908, p. 1224 et 1417.

l'acte essentiel du vieillissement. Duclaux avait également démontré, de son côté, que le vin ayant subi le contact de l'air pouvait vieillir en bouteilles hermétiquement bouchées, grâce à cette réserve d'oxygène emmagasinée.

D'après les résultats d'expériences exposées précédemment, on peut prévoir que ce contact prolongé de l'oxygène avec le vin doit augmenter les proportions d'aldéhyde en même temps que favoriser ses combinaisons.

C'est bien, en effet, ce que l'on peut tout d'abord constater dans les vins vieux et les eaux-de-vie. Le dosage comparatif effectué par les deux méthodes que j'ai indiquées plus haut prouve qu'il s'est formé, au cours du vieillissement, des combinaisons aldéhydiques fixes qui n'existaient qu'en petite quantité, ou pas du tout avant le vieillissement.

Les chiffres d'aldéhyde du tableau suivant représentent la différence entre l'aldéhyde totale et l'aldéhyde libre : ils correspondent donc à l'aldéhyde combinée, formée au cours du vieillissement.

TABLEAU XVI

PRODUITS ANCIENS	ALDÉHYDE régénérée en milligr. 0/00	PRODUITS NOUVEAUX	ALDÉHYDE régénérée en milligr. 0/00
Chambertin 1894.....	95	Vin de Bordeaux 1907.	35
Vouvray 1895.....	70	Bordeaux 1907.....	Néant.
Beaune Hospice 1885.	112	Bourgogne 1907.....	Néant.
Vouvray 1900.....	120	Coupage.....	Néant.
Eau-de-vie 1898.....	85	Eau-de-vie 1906.....	70
Whisky 1895.....	95	Eau-de-vie 1907.....	80
Xérès 1890.....	142	Xérès 1908.....	18

J'ajouterai que des résultats semblables ont été trouvés par M. Barbet fils, qui en fait le sujet d'un intéressant travail¹.

CONCLUSION

On voit par la comparaison de ces chiffres que les vins vieux et les eaux-de-vie anciennes possèdent une plus grande proportion d'aldéhyde combinée que les vins et eaux-de-vie de

1. Congrès de sucrerie, distillerie et œnologie, avril 1908.

date récente. Il y a donc eu formation d'aldéhyde au cours du vieillissement.

* * *

Je vais maintenant examiner le rôle de l'aldéhyde acétique dans les principales modifications qui accompagnent le vieillissement, c'est-à-dire :

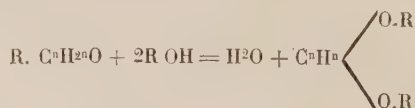
- 1° Dans la formation du bouquet ;
- 2° Dans celle du dépôt ;
- 3° Dans le changement de couleur.

a) *Formation d'acétals.*

Le premier auteur qui ait signalé la présence d'acétals dans les vins vieux est Doebreiner, qui l'avait retiré des produits de distillation d'une grande quantité de vins vieux ¹.

Plus tard, Geuther ² en trouvait dans l'alcool brut. Kraemer et Pinner ³ le signalèrent comme produit accessoire de la distillation de l'alcool. En effet, ces deux chimistes, en opérant sur 1500 litres avaient pu obtenir un liquide passant à 103-105° auquel ils attribuèrent la composition de l'acétal éthylique.

On sait que les aldéhydes ont la propriété de se combiner aux alcools avec élimination d'une molécule d'eau pour former des acétals d'après la formule générale :



Cette condensation se fait très lentement à la température ordinaire, sous l'influence d'une très faible acidification, comme celle qui existe normalement dans le vin. La présence de certains corps, jouant le rôle de substances de contact, favorise beaucoup la réaction : cette observation nous a même permis, à M. Cambier et à moi ⁴, de publier un procédé de préparation de dérivés méthyléniques, utilisé aujourd'hui dans les laboratoires.

Enfin, j'ai moi-même à plusieurs reprises fait observer que

¹ Doebreiner. G. M. 4, 895.

² Annalen der Chem. 126, 63.

³ Berichte des deut. Chem. Ges., 2403; 4, 787.

⁴ Bull. de la Soc. Chim., 1894, p. 752 et 817.

la formation d'aldéhyde par l'oxydation des divers alcools de la série grasse, sous l'influence de substances de contact, s'accompagnait toujours d'une petite quantité de l'acétal correspondant à l'alcool¹.

Retenons de ces observations que l'acétal peut se former avec une grande facilité chaque fois que l'aldéhyde et l'alcool se trouvent en présence.

La formation des acétals est démontrée indirectement par la disparition lente de l'aldéhyde *libre*, quand elle est mélangée avec l'alcool. J'ai effectué sur ce sujet une série d'essais en collaboration avec M. Rougelet-Delâtre : les expériences ont consisté à placer à l'abri de l'air, pour éviter des erreurs provenant de l'acétification des mélanges d'aldéhyde, d'alcool et d'eau. L'aldéhyde était dosée au début de l'expérience, et on constatait peu à peu sa disparition par des dosages pratiqués tous les quinze jours. Voici un exemple de disparition sur une solution alcoolique d'aldéhyde au centième.

TABLEAU XVII

SOLUTION ALCOOLIQUE contenant 500 milligr. d'aldéhyde acétique par litre.	ALDÉHYDE DISPARUE en milligr.	ÉVALUATION en acétal correspondant en milligr.
Début : 500 milligr.....	0	0
Après 15 jours.....	120	324
Après 1 mois.....	300	810
Après 2 mois.....	350	945

Ces essais ont été fait sur des proportions assez considérables d'aldéhyde pour permettre de remplacer les méthodes colorimétriques par la méthode volumétrique de Seyewetz et Lumière².

M. Rocques a également fait quelques essais, sur ma demande, et constaté que l'aldéhyde s'acétalisait lentement en chauffant un mélange d'aldéhyde, d'alcool et d'eau.

Dosage de l'acétal. — Le dosage de l'acétal dans les vins vieux et les eaux-de-vie présente de grandes difficultés, parce qu'on se

1. *Bull. de la Soc. chim.* 1903.

2. *Bull. de la Soc. chim.* 1903, p. 33.

trouve en présence d'une quantité indéterminée d'aldéhyde libre, provenant de la dissociation partielle de l'acétal au cours de la distillation. D'autre part, les réactifs ont la même action sur l'acétal que sur l'aldéhyde et la différenciation devient impossible.

Mais on peut avoir une idée approximative de l'acétal contenu dans un vin ou une eau-de-vie en utilisant les méthodes analytiques indiquées plus haut¹ et en traduisant en acétal éthylique l'aldéhyde trouvée par différence de l'aldéhyde libre déduite de l'aldéhyde totale. Voici à titre d'exemple les résultats fournis par des vins vieux de provenances diverses :

TABLEAU XVIII

NATURE DU VIN	ALDÉHYDE COMBINÉE	
	évaluée en acétal $C^2H^4 \begin{cases} OC^2H^5 \\ OC^2H^5 \end{cases}$	
Beaune Hospice 1890.....	150	milligr.
Bordeaux 1892.....	180	—
— 1893.....	190	—
Cognac fin bois 1895.....	200	—
Whiskey 1905.....	320	—

Ces poids élevés d'acétal s'expliquent, étant donné que l'aldéhyde donne plus de 2 fois et demie son poids d'acétal avec l'alcool éthylique, et plus de 5 fois avec les alcools en C^8 .

J'ai fait observer² que les acétals étaient doués d'un arôme reconnaissable à des dilutions extrêmement grandes et que leur parfum allait en augmentant avec le poids moléculaire des alcools combinés. Ce sont les acétals des alcools supérieurs comme ceux qui se trouvent dans les vins qui sont les plus parfumés.

CONCLUSION

L'aldéhyde s'acétalise donc au moins en partie dans les vins et les eaux-de-vie, et les acétals qui en résultent contribuent à la formation du bouquet.

1. Les dosages d'aldéhyde a été faite dans les eaux de vie ont été faits par la méthode Barbet, à l'hydroquinone, qui s'applique bien aux alcools de distillation.

2. TRILLAT et CAMBIER, *Bulletin de la Soc. Chim.*, 1894, p. 752 et 817.

b) *Acide acétique et éther acétique.*

Acétification de l'aldéhyde. — L'aldéhyde acétique en solution étendue s'acétifie lentement, sous l'influence de l'oxygène de l'air. Si la solution aqueuse d'aldéhyde renferme de l'alcool, il y a en outre éthérification, c'est-à-dire formation d'éther acétique.

L'acide et l'éther acétique ont été signalés comme existant dans les vins normaux; l'acide acétique libre représente, d'après quelques auteurs, le principal élément de l'acidité volatile des vins, qui varie de $1/4$ au $1/20$ de l'acidité totale; quant à l'éther acétique, on le trouve mélangé aux autres principes volatils du vin.

L'origine de l'aldéhyde acétique dans les vins sains a été généralement attribuée à des réactions secondaires s'exerçant entre les éléments du vin. Pasteur pense qu'une partie de cet acide acétique préexiste dans le moût. Quoi qu'il en soit, l'acétification de l'aldéhyde contribue à coup sûr à la formation de l'acide acétique dans le vin.

J'ai déjà publié ailleurs des essais qui font voir que l'acétification de l'aldéhyde est soumise à des influences : agitation, exposition, température, etc., semblables à celles de l'alcool; la présence d'un porteur d'oxygène la facilite particulièrement. Duchemin et Dourlon¹, à la suite de mes essais, ont étudié les causes qui provoquent l'acidification et par suite l'éthérification d'un alcool neutre : ils ont montré l'influence de la nature des parois sur la marche du phénomène.

Lorsqu'on opère en remplaçant l'alcool par le vin, le phénomène est encore plus accentué. C'est ce que prouvent les essais entrepris dans le but de démontrer : 1^o que l'aldéhyde acétique dans le vin se transforme partiellement en acide, sous l'influence du temps et de l'oxygène; 2^o que l'éthérification s'y produit à la longue.

Voici d'abord un tableau qui montre que lorsqu'un vin rouge est additionné d'aldéhyde acétique et exposé à l'air, son acidité augmente avec le temps par rapport au vin témoin.

1. *C. R. de l'Ac. des Sc.; Bull. de l'Ass. des Chim., de Suc.*, 1906.

TABLEAU XIX

	ACIDITÉ VOLATILE			
	Exprimée en milligr. d'acide acétique 1 000.			
	Au moment de l'expérience.	Après 5 jours.	Après 10 jours.	Après 15 jours.
I. Vin rouge témoin.....	95 mgr.	95 mgr.	102 mgr.	105 mgr.
Vin rouge 1/500 d'aldéhyde.	95 —	125 —	145 —	170 —
II. Vin rouge témoin.....	108 —	108 —	115 —	115 —
Vin rouge 1/2000 d'aldéhyde.	108 —	133 —	160 —	280 —
III. Alcool à 44°.....	5 —	7 —	10 —	10 —

On a constaté en même temps, par le dosage, une disparition correspondante de l'aldéhyde acétique dans les vins qui en avaient reçu.

c) Ethérification.

L'éthérification de l'alcool éthylique avec l'acide acétique a fait l'objet d'études qui me dispensent de m'étendre sur le phénomène. Mais il est intéressant de faire observer que non seulement le degré d'acidité totale du vin, mais aussi la présence de microorganismes favorisent l'éthérification. Cette influence est mise en évidence par des essais que j'ai faits directement sur l'alcool, pour mieux étudier le phénomène.

Une solution à 10 0/0 d'alcool a été additionnée d'acide acétique et partagée en deux parties; l'une d'elles a reçu 5 0/0 de levure (Levure Springer), soigneusement débarrassée de toute trace d'acidité fixe et volatile. Les deux liquides ont été agités pendant le même temps; après 12 et 48 heures d'attente, on a procédé au dosage des acides volatils.

TABLEAU XX

	Éther acétique formé exprimé en milligr. 0/0.		
	Au début de l'expérience.	Après agitation 10 minutes.	Après 48 heures.
Témoin sans levure.....	0	10	35
Essai avec levure.....	0	45	90

En même temps, on a constaté une diminution d'acidité libre plus considérable dans le liquide contenant la levure.

MM. Duchemin, Sauton et moi-même avons en outre reconnu l'influence éthérifiante de la levure dans un grand nombre de cas que nous publierons à part¹.

L'éthérification, d'ordre purement chimique, se superpose donc à celle produite par la levure.

Le phénomène explique bien pourquoi, dans le vieillissement, le minimum d'éther correspond au maximum d'aldéhyde, et *vice-versa*. Des résultats tout à fait analogues avaient été signalés par MM. Kayser et Demolon, dans d'autres conditions, en laissant en contact pendant plusieurs mois des moûts ensemençés de diverses levures.

CONCLUSION

L'aldéhyde acétique est donc capable de s'acétifier plus ou moins dans le vin rouge sous diverses influences et de contribuer ainsi à la formation des éthers du bouquet.

d) Formation des dépôts, sous l'action des acétals.

J'ai trouvé que les acétals exerçaient sur la matière colorante du vin rouge une action semblable à celle de l'aldéhyde acétique. Pour le prouver, j'ai répété les mêmes expériences que celle du tableau II (Voir la première partie de ce travail).

TABLEAU XXI

	DÉPOT après 24 h.	DÉPOT ap. 5 jours.	DÉPOT ap. 15 jours.	DÉPOT ap. 4 mois.
Vin rouge témoin.....	Clair.	Clair.	Clair.	Clair.
— 1/500 acétal.....	Trouble.	Dépôt.		
— 1/1000 acétal.....	Clair.	Trouble.	Trouble.	Dépôt.
— aldéhyde, quantité correspondante à 1/1000 d'acétal.....	Clair.	Dépôt.		

L'acétal se comporte, vis-à-vis la matière colorante, de la même manière que l'aldéhyde, mais plus lentement. Le dépôt a le même aspect, la même coloration, les mêmes particularités.

¹ TRILLAT ET SAUTON. *Comptes rendus de l'Ac. des Sciences*, 1908. Voir aussi les observations de M. Mazé. *Ann. Inst. Past.* XVIII, 1904.

Enfin, les acétals des alcools supérieurs (alcools propylique, butylique, amylique) et les acétals à résidus aldéhydiques différents se comportent de même. L'aldéhyde libre peut donc disparaître sous forme d'acétal : la formation des dépôts n'en est pas arrêtée.

La combinaison des acétals avec les matières fixes du vin rouge ressort encore des expériences suivantes, qui montrent que l'extrait additionné d'acétal augmente légèrement de poids.

On a réparti 800 c. c. de vin rouge stérilisé dans 8 réipients plats tarés. 4 d'entre eux servaient de témoins; les 4 autres ont reçu chacun 1 c. c. d'acétal éthylique. Après un contact de 5 jours, on a évaporé le liquide dans le vide jusqu'à poids constant. Pour faire les pesées, on s'est entouré de grandes précautions pour éviter les erreurs dues à l'hygroscopicité de l'extrait sec.

TABLEAU XXII

	POIDS DES EXTRAITS TÉMOINS (calculé pour 1 litre.)	POIDS DES EXTRAITS DE VIN additionnés d'acétal.
I	26,156	26,487
II	26,180	26,498
III	26,148	26,505
IV	26,155	26,480

Cette augmentation de poids de l'extrait est donc très nette, comme pour le cas de l'aldéhyde; l'acétal, produit volatil, s'est décomposé et s'est fixé à la matière colorante du vin. Ce résultat démontre que, dans un vin vieux, l'alcool en s'aldéhydifiant contribue indirectement à une très faible augmentation du poids de l'extrait sec.

CONCLUSION

L'acétal éthylique formé au cours du vieillissement est susceptible de provoquer la précipitation de la matière colorante du vin rouge, de la même façon que l'aldéhyde libre.

II. JAUNISSEMENT.

Au fur et à mesure que les dépôts se forment au cours du vieillissement du vin, on observe un changement de teinte : la couleur s'atténue, passe au rouge pelure d'oignon, et parfois au jaune orange. Le jaunissement des vins avait déjà été observé dès la plus haute antiquité, puisque Gallien et Oribase¹ en font mention. Ces changements de teinte, qui varient selon l'origine du vin, ont été étudiés et décrits par Pasteur qui en a reproduit quelques spécimens dans son ouvrage sur les maladies du vin et qui a démontré expérimentalement l'action accélératrice de la lumière sur le changement de teinte.

Or, ces changements de couleur ont lieu quand on ajoute de l'aldéhyde acétique à un vin rouge : le changement devient visible surtout à partir du moment où le dépôt est abondant ; la teinte varie avec la nature du vin comme c'est le cas pour les vins vieillis naturellement et d'origines différentes. La vérification de ces résultats est facile.

La couleur des vins étant une résultante de matières colorantes de basicités différentes, analogues à certaines couleurs dérivées du triphénylméthane, comme l'avait prévu et démontré M. Armand Gautier, la précipitation de certaines d'entre elles (les moins solubles, probablement les plus rouges) doit évidemment amener un changement de teinte ; voilà déjà une première explication.

Quelques auteurs ont attribué le jaunissement du vin à une caramélisation du sucre : or dans toute caramélisation de sucre il y a formation abondante de produits aldéhydiques ; d'où précipitation de matière colorante.

Le phénomène rentre dès lors dans le cas étudié plus haut.

Le jaunissement se produirait aussi à la suite de la maladie de la casse².

Pour mieux faire saisir l'analogie qui existe entre les colo-

1. Oribase, traduction de Darembert, MDCCCLI, Imprimerie nationale, t. I^{er}, page 349.

2. On sait, d'après les travaux de Laborde, que le *Botrytis cinerea* serait une source abondante de diastase oxydante susceptible de produire la casse et le jaunissement. Je me propose d'étudier, dans un travail à part, si ces phénomènes sont accompagnés d'une production d'aldéhyde. Le fait que le *Botrytis cinerea* agit sur les solutions de quelques matières colorantes rouges végétales exemples d'alcool, comme l'a fait observer M. Martinand, ne suffit pas pour conclure *a priori* à l'absence d'aldéhyde : celle-ci peut prendre naissance dans une foule de circonstances.

rations que prennent les vins vieux naturels et les vins artificiellement aldéhydifiés, j'ai représenté dans la planche X le changement de teinte survenu dans ces derniers, c'est-à-dire dans des vins rouges additionnés d'aldéhyde.

La figure 1 représente un vin rouge témoin.

La figure 2 est le même vin aldéhydifié au 1/3000 après 2 semaines de contact.

La figure 3 représente le même vin après filtration.

Les figures 4 et 5 correspondent, d'après Pasteur, à un vin vieilli artificiellement à l'air et à son témoin. On remarquera la différence de teinte obtenue par la simple clarification du vin aldéhydifié. Ce fait confirme l'opinion émise plus haut sur le virage de la coloration : virage qui serait provoqué par la séparation des parties les plus rouges.

CONCLUSION

Dans un vin rouge, l'addition, ou ce qui revient au même, la formation d'aldéhyde acétique en quantité suffisante pour précipiter partiellement la matière colorante de ce vin, provoque en même temps le jaunissement du liquide clair.

III. AMERTUME.

Les recherches bibliographiques que j'ai faites sur l'amertume du vin, m'ont démontré que les anciens avaient déjà observé ce phénomène qu'ils avaient soin de ne pas confondre avec l'âpreté du vin. Pline l'ancien (Liv. XIV, *Insignia culturae vinearum*), cite des vins ayant une tendance à l'amertume; Théophraste (*De Causis*, liv. VI, chap. X), et Gallien en font aussi mention. La disparition même de l'amertume dans certaines circonstances leur était connue.

Plus récemment le goût amer qui caractérise certains vins rouges a été considéré comme une conséquence de la maladie microbienne dite de l'amertume, très connue dans les crus de Bourgogne. Cette amertume qui accompagne la maladie a été attribuée à plusieurs causes : sécrétion microbienne, altération de la matière colorante, etc.

Après Pasteur, plusieurs savants se sont occupés de l'amertume bactérienne. Duclaux a étudié les acides produits au cours de la maladie; Bordas, Joulin et Raczkowski ont pu isoler un ferment reproduisant l'amertume; Mazé et Pacottet ont mis en

évidence que le ferment de l'amer se comportait exactement en milieux sucrés comme un ferment mannitique et que dans les vins amers il se trouvait toujours un mélange d'espèces microbiennes diverses. Enfin Laborde¹ a émis l'opinion que l'amertume comme les autres altérations connues sous le nom de fermentation mannitique, pousse, tourne, etc., serait le fait d'un organisme unique dont les propriétés physiologiques se modifieraient sous l'influence des conditions d'un milieu aussi complexe et variable que le vin.

Pasteur et M. Vergnette-Lamotte² distinguaient deux sortes d'amertume du vin : la première, celle qui les atteint dans les premières années; la deuxième se produit dans les vins très vieux; elle est connue sous le nom de *goût de vieux*. Au début de la maladie, le vin commence par présenter une odeur particulière, son goût est fade et douxereux; cette première manifestation est désignée sous le nom de *doucine*. A ce moment la saveur amère n'est pas encore très prononcée.

Mais, à côté de cette amertume très spéciale accompagnée du filament, on rencontre aussi des vins atteints d'autres maladies et possédant un goût amer. Bien plus, des vins sains, indemnes de tout germe, présentent parfois un goût bien caractéristique d'amertume, comme Pasteur l'a observé³.

Le vin mis en vidange prend souvent, par le seul fait de l'action de l'air, une amertume prononcée sans que le vin présente la moindre trace de développement cryptogamique. Cette amertume offre ceci de particulier qu'elle disparaît si on supprime la vidange et si on conserve le vin en bouteille pleine pendant quelques semaines.

« J'ai vérifié maintes fois, dit Pasteur, que l'effet d'amertume était dû uniquement à une action chimique. »

Il ajoute que cette observation étendue au cas de l'amertume proprement dite, a fait croire que l'amertume était le résultat d'une décomposition de la matière colorante.

Il y a donc amertume et amertume et on peut distinguer pour le vin, comme c'est le cas pour le lait que M. Sauton et moi venons d'étudier⁴, plusieurs sortes d'amertumes auxquelles on

1. *C. R. de l'Ac. des Sciences*, 1898. Nouvelles expériences sur les maladies du vin (Rapport).

2. *Étude sur le Vin* (PASTEUR), page 66.

3. *Étude sur le Vin* (PASTEUR), page 78.

4. *Annales de l'Inst. Pasteur*, avril 1908.

peut attribuer des causes très différentes. Aussi les observations qui suivent ne visent-elles pas spécialement l'amertume classique du vin, accompagnée de filaments : elles concernent aussi les cas de production d'amertume d'ordre purement chimique ainsi que le goût de *faur vieux* auquel Pasteur et Vergnette-Lamotte faisaient allusion. C'est, en effet, dans ces derniers cas, qui sont très fréquents, quand on y prête attention, que l'action de l'aldéhyde acétique semble être le plus manifeste.

L'hypothèse du rôle joué par l'aldéhyde acétique intervenant dans l'apparition des diverses sortes d'amertumes se pose tout naturellement à l'esprit quand on connaît, comme je vais l'exposer, les propriétés que possède ce corps de se polymériser ou de se résinifier dans des conditions particulières, en donnant naissance à des substances extrêmement amères. Ces explications complètent celles que je n'ai pu donner qu'imparfaitement dans une note présentée à l'Académie des Sciences.

Observations sur la formation et les propriétés de la résine d'aldéhyde.

RÉSINIFICATION DE L'ALDÉHYDE. — On sait, d'après les travaux de Ciamiccian, de Liebig, de Puchot¹, que ces résines aldédiques prennent naissance par l'action des alcalis sur les aldéhydes de la série grasse. Ainsi, quand on abandonne une solution d'aldéhyde acétique au 1/000, légèrement alcalinisée par la soude, la potasse, la chaux, ou de préférence l'ammoniaque, on la voit jaunir lentement : il se produit un trouble et finalement un dépôt. En même temps, le liquide prend une amertume intense qui s'atténue avec le temps et finit par disparaître.

Une semblable résinification n'a pas lieu seulement en milieu alcalin : elle peut se produire aussi, mais avec moins de facilité en solution acide, l'acidité étant même de beaucoup supérieure à celle des vins normaux.

La présence de l'ammoniaque *favorise* cette résinification : ainsi une solution alcoolique à 10° aldéhydifiée à 5 0/0, additionnée de 1/100 d'ammoniaque et acidifiée à 10 0/0 par l'acide acétique donne, après quelques jours de contact, par évaporation lente au bain-marie, un résidu jaunâtre, très amer.

1. *Annales de Phys. et Ch.*, 1886.

L'influence d'un sel ammoniacal pour la résinification de l'aldéhyde en milieu acide est manifeste.

De même, le liquide provenant d'un vin rouge, privé de sa matière colorante et additionné de 1/1000 d'aldéhydiate d'ammoniaque, quantité insuffisante pour neutraliser l'acidité, donne aussi par évaporation un extrait amer, comparativement à l'extrait témoin.

Ces exemples montrent que la présence d'un sel d'ammoniaque en solution fortement acide retient en quelque sorte l'aldéhyde acétique qui finit par se résinifier.

La résinification de l'aldéhyde acétique se produit encore dans un grand nombre de cas : ainsi je l'ai observée dans les expériences d'aldéhydification de l'alcool sous l'influence des levures ; une solution étendue d'aldéhyde se décompose par addition de substances albuminoïdes. Les solutions aqueuses d'aldéhyde jaunissent et deviennent amères quand elles sont en contact avec des fragments de muqueuse. Il est même fréquent que des solutions pures d'aldéhyde se polymérisent dans des flacons au laboratoire, sous l'influence de la lumière et de la nature des flacons. Le mécanisme de cette transformation de l'aldéhyde acétique est difficile à expliquer dans l'état actuel de la science.

Retenons donc, de l'ensemble de ces observations et expériences, que l'aldéhyde acétique peut se résinifier dans un grand nombre de circonstances et même, quoique plus lent, en milieu acide.

PROPRIÉTÉS. — La résine d'aldéhyde acétique fraîchement préparée est soluble dans l'eau alcalinisée, partiellement soluble dans l'eau acidulée ou alcoolisée, soluble dans l'alcool concentré. Les solutions sont colorées en jaune, elles possèdent une telle amertume que celle-ci est reconnaissable à une dilution de 1/50000. On se rend compte ainsi comment la formation de quelques décigrammes de cette substance suffiraient à communiquer au vin une amertume prononcée.

La solution aqueuse ne donne rien avec l'alun de fer, le cyanure de potassium et la solution de gélatine acidifiée. La substance n'appartient donc pas à la famille des tannins. La solution alcoolique se trouble par l'addition d'eau, elle s'éclaircit

par l'ébullition avec la lessive de soude; elle donne les indices suivants (pour 1 gramme de substance).

Indice d'acide.....	0 gr. 014	en KOH
Indice d'éther.....	0 gr. 0168	—

Essayée par la réaction de M. Halphen (dissolution dans un mélange d'acide acétique et phénique, et action des vapeurs de brome), on obtient une coloration vert intense.

Enfin la résine fraîche est entraînable par la vapeur d'eau : observation qui sera utilisée comme on le verra plus loin.

La résinification a lieu avec absorption d'oxygène; les solutions finissent par se troubler, former un dépôt dénué de toute amertume. L'analyse élémentaire de deux résines longtemps exposées à l'air m'a donné les résultats suivants :

	CARBONE	HYDROGÈNE	OXYGÈNE
I	73,92	8,11	17,97
II	74,06	8,13	17,81

Rôle probable de l'aldéhyde dans les diverses amertumes du vin.

Le mode de formation de ces résines, leurs propriétés physiques et chimiques, notamment celle d'être partiellement entraînaibles par la distillation et de s'oxyder en perdant leur amertume, vont me servir à établir le rôle probable de l'aldéhyde acétique dans les phénomènes de production des diverses amertumes du vin.

Le tableau suivant indique tout d'abord que des vins atteints de l'amertume peuvent contenir, au cours de la maladie, des doses notables d'aldéhyde.

TABLEAU XXIII

ORIGINE DES VINS	ALDÉHYDES en milligr. par litre.	ORIGINE DES VINS	ALDÉHYDES en milligr. par litre.
Bourgogne 1898.....	90	Bordeaux.....	70
— 1890.....	105	—	110
— 1900.....	68	Savoie 1901 (très amer).	150

J'ai pu y déceler, d'autre part, l'ammoniaque, confirmant ainsi l'observation de MM. Bordas, Joulin et Raczkowski ¹, qui ont démontré que le filament de l'amertume fabriquait de petites quantités d'ammoniaque.

Remarquons que Maumené avait déjà fait observer depuis longtemps que le vin riche en substance azotée, susceptible par conséquent de produire de l'ammoniaque, prenait plus facilement le goût amer.

La présence de l'aldéhyde et de l'ammoniaque dans les vins malades n'implique pas forcément comme conséquence la formation d'amertume : il faudra, comme je vais l'expliquer, que d'autres circonstances interviennent.

La connaissance des propriétés des résines aldéhydiques cadre bien avec les observations faites par Pasteur au cours de ses études sur l'amertume. Il fit remarquer que les articles dont se composaient les filaments présentaient des nodosités analogues à des incrustations, solubles dans l'alcool, avec coloration jaune; que les vins prenaient une teinte pelure d'oignon en jaunissant de plus en plus; qu'il se formait des dépôts flottants, enfin que l'amertume pouvait disparaître sous l'influence du temps.

Ce sont bien là les caractères généraux que présentent les vins rouges additionnés d'aldéhyde. Les nodosités peuvent être expliquées par la précipitation qui a lieu sur les filaments. Relativement à la disparition de l'amertume, j'ai fait remarquer plus haut que sous l'influence du temps les résines aldéhydiques perdaient peu à peu leur amertume.

MM. Mazé et Pacottet, Babo et Nessler ² ont recommandé, comme préservatif de l'amertume, l'aération mitigée du vin. M. Chuart ³ a émis l'opinion contraire. Connaissant les propriétés des résines d'aldéhyde, ces traitements ne sont pas contradictoires, selon qu'on envisage le début ou la fin de la maladie, le ferment ou la résine, c'est-à-dire le préservatif ou le remède.

Objection. — Les doses d'aldéhyde qui ont été trouvées dans les vins atteints de la maladie de l'amertume ne sont pas

1. *C. R. de l'Ac. des Sc.* p. 1050 et 1443.

2. *Revue de viticulture*, 1904.

3. SEMICHON, *Maladie des vins*, 1903, p. 376.

plus considérables que celles que l'on peut rencontrer dans d'autres vins malades, ou dans des vins vieux. On peut dès lors se demander pourquoi ceux-ci ne présentent pas toujours un goût amer, et pourquoi l'addition d'aldéhyde et d'ammoniaque à un vin rouge ne reproduit pas toujours à coup sûr l'amertume.

Je répondrai à cette objection en faisant observer que l'aldéhyde a plusieurs destinations dans le vin : elle peut s'acidifier (tableau XIX), s'éthérifier (tableau XX), s'acétaliser, (tableau XVII et XVIII), se combiner avec la matière colorante (tableau XXII) ; l'ordre et l'importance de ces réactions sont variables, selon un grand nombre de circonstances, (tableau VIII) ¹ comme c'est le cas, par exemple, pour la précipitation de la matière colorante du vin et dont les conditions sont si variables avec la composition du vin. La résinification de l'aldéhyde exige l'intervention de l'oxygène et peut-être celle d'un agent d'oxydation. C'est un phénomène complexe. Il y a donc dans le vin une composition optima qui peut favoriser la résinification.

C'est ce que prouve l'expérience. L'addition d'aldéhyde et d'ammoniaque au vin rouge dans une proportion de 1/3000 à 1/10000 ne provoque pas à coup sûr l'amertume intense que l'on observe dans les vins malades. Ainsi j'ai noté seulement deux cas, sur environ une vingtaine d'essais, où une amertume intense s'était très nettement produite après 3 semaines d'attente, alors que les témoins placés dans les mêmes conditions n'en présentaient pas trace. Quant aux autres vins d'essai, ils avaient manifestement acquis ce goût de faux vieux signalé par Vergnette-Lamotte et Pasteur, et possédant cet arrière-goût amer qui constitue l'amertume que prennent les vins rouges en l'absence de maladies microbiennes.

Mes appréciations personnelles ont été confirmées par celles de dégustateurs professionnels, qui ont déclaré comme étant amers des vins rouges additionnés d'aldéhyde à des doses variant de 1/5000 à 1/50000.

*
* *

Les deux observations suivantes viennent encore à l'appui de l'hypothèse d'une résinification aldéhydique.

1. PASTEUR, *Etude sur le vin*, 1886.

La première concerne le caractère volatil de l'amertume. J'ai indiqué plus haut que la résine d'aldéhyde était partiellement entraînable par la distillation quand elle n'était pas complètement oxydée. Me basant sur cette propriété j'ai pu retirer, par distillation à la vapeur, d'un vin de Bordeaux authentiquement amer, un liquide légèrement coloré en jaune et qui, par évaporation lente, a donné environ 5 centigrammes d'un résidu jaune amer, présentant les caractères de solubilité de la résine d'aldéhyde.

La deuxième observation s'appuie sur une remarque de Pasteur, qui a indiqué que la teinte des vins amers saturés par l'eau de chaux, jaunissait par rapport aux témoins non malades. On obtient les mêmes différences de teinte quand on neutralise en même temps qu'un témoin, l'acidité d'un vin rouge additionné d'aldéhydate d'ammoniaque.

En résumé, pour affirmer d'une façon définitive l'existence d'une résine aldéhydique dans le vin atteint de la maladie de l'amertume, il faudrait pouvoir en isoler une quantité assez considérable pour en permettre l'identification : identification difficile à établir quand on réfléchit à l'instabilité de sa composition. On se heurte malheureusement à la difficulté de se procurer des vins authentiquement malades, ou à la difficulté non moins grande de la réussite par voie d'ensemencement. Quant aux vins présentant une amertume ou le goût de faux-vieux en dehors de toute intervention microbienne, le rôle de l'aldéhyde me paraît être certain et les observations que j'ai rapportées en donnent une explication très acceptable.

J'ai exposé d'une part les faits qui militent en faveur de ma théorie; j'ai présenté, d'autre part, les objections qu'on peut lui opposer. De nouveaux travaux pourront l'infirmier ou la confirmer.

Jaunissement et amertume de l'alcool et des eaux-de-vie.

On rencontre parfois des eaux-de-vie possédant un goût d'amertume très prononcé. L'explication est facile à donner, j'ai montré que la partie amère du vin malade était parfois, selon l'âge de l'amertume, entraînable par la distillation. Une nouvelle distillation de ces eaux-de-vie ne fait qu'atténuer le goût d'amer; par évaporation lente du distillat, on retrouve un résidu jaune et amer. L'analyse d'une eau-de-vie amère m'a

donné 200 millig. d'aldéhyde par litre; la présence de l'ammoniaque a été caractérisée par le réactif à l'iodure d'azote. Dans ce cas, l'amertume était bien due à de l'aldéhydate d'ammoniaque.

J'ai eu l'occasion d'étudier un exemple bien net d'alcool amer

Il s'agissait d'une fabrication dans laquelle cette amertume était reproduite journellement, au détriment de la qualité de l'alcool, qui passait décoloré à la rectification, jaunissait peu à peu, en prenant un goût extrêmement amer une fois exposé à l'air. Le phénomène diminuait, mais n'était pas arrêté par une nouvelle rectification. L'analyse de l'alcool fraîchement distillé démontrait la présence de l'aldéhyde et de l'ammoniaque.

L'enquête que j'ai faite sur la question a démontré que cet alcool provenait de la distillation de moûts ayant servi à la fabrication de levures par la méthode appelée « Procédé par aération ». On sait, comme cela a été démontré récemment, que l'alcool s'aldéhydifie plus rapidement au contact de la levure et de l'air. La formation de l'ammoniaque était due à une décomposition de la levure, au moment de la distillation.

L'amertume de l'alcool a pu être ultérieurement évitée par une distillation en milieu plus acide, afin d'empêcher l'entraînement de sels ammoniacaux qui provoquaient la résinification de l'aldéhyde acétique.

M. Egrot a également constaté ce phénomène qu'il a rattaché aux mêmes causes que moi. (Congrès de sucrerie et de distillerie, avril 1908).

On reproduit d'ailleurs, on peut dire à coup sûr, l'amertume d'une eau-de-vie ou de l'alcool par addition d'aldéhyde et d'ammoniaque. Ainsi de l'alcool à 60°, additionné de 200 milligrammes d'aldéhyde par litre et de 100 milligrammes d'ammoniaque, se colore en jaune et devient fortement amer. Comme dans le cas précédent, l'amertume passe dans l'alcool distillé.

Le rôle de l'aldéhyde dans la formation de l'amertume des alcools et eaux-de-vie ne fait donc aucun doute.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I. — L'aldéhyde acétique existe dans le vin et les eaux-de-vie à des doses variables, dépassant rarement 200 milligrammes

par litre. Sa présence résulte de l'oxydation de l'alcool sous l'influence de l'oxygène de l'air.

II. — L'aération du vin, l'agitation, la présence de micro-organismes, comme dans le cas de maladies, le vieillissement, sont des facteurs qui augmentent ses proportions.

III. — L'aldéhyde libre qui se forme dans le vin, quelle que soit son origine, disparaît peu à peu avec des destinations différentes :

a. Avec les matières colorantes du vin, elle donne des précipités plus au moins solubles, selon la nature du vin, sa composition et la température, contribuant ainsi à la formation des dépôts normaux au cours du vieillissement du vin et aux dépôts hâtifs dans les cas des maladies du vin d'origine microbienne ou diastasique. Son action peut donc s'ajouter dans les maladies de la casse, à celle des oxydases qui attaquent directement les matières colorantes et en provoquent la précipitation ;

b. Avec les alcools du vin, elle donne des acétals simples ou dissymétriques qui, à la longue, précipitent lentement la matière colorante du vin ;

c. Par une oxydation prolongée, elle se transforme partiellement en acide acétique qui s'éthérifie ensuite pour former au moins une portion de l'éther acétique que l'on rencontre dans tous les vins : acétals et éther acétique sont des composés qui contribuent à la composition du bouquet.

IV. — Enfin l'aldéhyde libre ou l'acétal peuvent se polymériser ou se résinifier en substances amères même en solutions acides, dans des circonstances bien définies pour l'eau-de-vie et l'alcool, mais moins définies pour les vins rouges.

V. — L'aldéhyde acétique et les acétals contribuent au jaunissement que l'on observe dans les vins vieux et les eaux-de-vie.

*
* *

Sans vouloir lui attribuer un rôle prépondérant, on peut donc conclure que l'aldéhyde acétique participe donc plus ou moins aux principales modifications que subit le vin. C'est à ce titre que son rôle méritait d'être étudié et approfondi¹.

1. Je tiens à remercier ici M. Sauton pour sa collaboration au cours de ce travail.

Etudes sur l'ankylostomiase et le béribéri en Cochinchine.

PAR F. NOC

Médecin-major de 2^e classe des Troupes coloniales.

Le problème du béribéri est l'un des plus complexes et des plus confus de la pathologie exotique. Aussi les théories qu'on a émises sur son origine sont-elles nombreuses.

Il y a une vingtaine d'années, les médecins anglais et hollandais des Indes Orientales, notamment *Erni*¹ à Sumatra et *W. Kinsey*² à Ceylan voulurent, les premiers, faire jouer à l'Ankylostome duodénal et au Trichocéphale un rôle prépondérant dans la production du béribéri. Cette hypothèse souleva aussitôt de sérieuses objections : le Trichocéphale manquait chez un grand nombre de malades ; l'Ankylostome duodénal fut retrouvé chez un nombre considérable de sujets n'ayant pas le béribéri. Dans l'Inde, en particulier, *Dobson*³ découvrit la présence de l'Ankylostome chez 75,57 0/0 des indigènes.

Les discussions⁴ qui s'élevèrent à ce sujet montrèrent d'ailleurs que nombre de médecins confondaient à cette époque, sous le nom d'anémie, le béribéri, l'ankylostomiase, le kala-azar et la malaria. *Buddoch* et *Giles*⁵ entre autres attribuaient à l'Ankylostome non seulement le béribéri de l'Assam, mais le kala-azar. Bien que la théorie helminthiasique du béribéri fût soutenue par d'autres observateurs, tels que *L. Braddon*, *F. Regnault*, *F. Thomas*, les contradictions et l'absence de preuves

1. ERNI H., *Berlin. Klin. Wochenschr.* 1886, XXIII, 614.

2. W. KINSEY, *Report on Anæmia or Beriberi in Ceylan.*

3. E. DOBSON, *Annual Sanit. Report for Assam for 1892.*

4. BAKER, *Ind. Med. Gaz.*, d'c. 1888. — LESLIE, *On Beriberi*, G. C. Press. Simla, 1891. PECKELHARING and WINKLER, WALKER, L. BRADDON, etc. (VOIR DAVIDSON, *Diseases of warm climates*. 1893, P. MANSON).

5. GILES, *Report of an investigation in to the causes of disease known in Assamas Kala-azar and Beriberi*, Shillong, 1880

GILES, *Report on Kala-azar and Beriberi*, Shillong, 1890. — *Report on Beriberi or Anæmia of Assam. Ind. Gaz. Med.* Jan. 1898.

suffisantes firent reculer le problème. Comment admettre, en effet, si le béribéri était l'ankylostomiase, qu'il fût si commun en Extrême-Orient et inconnu en Egypte et en Italie, où l'Ankylostome duodénal est si répandu? D'ailleurs, disait-on, le béribéri présente surtout les signes d'une polynévrite, tandis que c'est l'anémie qui domine dans l'ankylostomiase. Aussi la théorie helminthiasique fut-elle abandonnée.

De 1881 à nos jours, avec la diffusion croissante des théories microbiennes, on s'est efforcé de tous côtés de découvrir le microbe du béribéri, mais aucune des tentatives faites dans ce sens n'a reçu confirmation. Déjà, en 1893, *P. Manson* pouvait écrire : « On a beaucoup travaillé pour essayer d'établir l'origine microbienne du béribéri. Les résultats de ces efforts ont été cependant si contradictoires qu'il est impossible de dire en l'état actuel de la question ce qu'il faut accepter et ce qu'il faut rejeter ¹. » Et plus tard, en 1902 : « Nous sommes aussi ignorants sur le sujet que l'était *Bontius* quand il écrivait sur le béribéri, il y a plus de 250 ans. Les quelques progrès qu'on a faits récemment tendent plutôt à montrer ce que le béribéri n'est pas, qu'à dire ce qu'il est ². » Il ressort en effet des recherches d'observateurs minutieux, tels que *R. Koch*, *Simond*, etc., que les humeurs et les tissus dans le béribéri ne renferment aucun microbe spécifique.

On a tenté depuis quelques années de substituer à l'hypothèse purement infectieuse l'idée d'une maladie toxi-infectieuse ayant son point de départ dans le tube digestif. La notion d'intoxication cadre mieux que toute autre avec les faits cliniques : néanmoins, les microbes incriminés ne permettent d'expliquer ni l'origine, ni les symptômes spéciaux du béribéri, ni la propagation de la maladie. D'autre part, quelques expérimentateurs ont pu attribuer à leurs microbes des symptômes isolés, observés chez l'animal, comme les paralysies, et dont l'interprétation est difficile aux pays chauds, mais non la maladie classique, essentiellement polymorphe, qu'on observe chez les Asiatiques en Indo-Chine et chez les Européens au Brésil.

Au milieu de ces incertitudes, la théorie alimentaire a conservé quelques partisans, malgré les nombreuses contradictions

1. *P. MANSON* (*In* *DAVIDSON, Diseases of warm climates*).

2. *P. MANSON, Brit. med. Journ.*, 1902, 2, 830.

qu'elle soulève. Il est en effet connu qu'une *nourriture monotone et pauvre en substances azotées*, comme le cas se présente chez les mangeurs de riz, *facilite l'éclosion du béribéri dans les milieux où il est endémique*. Mais il est impossible d'expliquer par l'hypothèse alimentaire les poussées saisonnières du béribéri, son allure parfois nettement contagieuse, sa présence chez des individus dont la nourriture est variée et qui ne mangent pas de riz, son absence chez un nombre considérable de mangeurs de riz.

I

ROLE ÉTIOLOGIQUE DE *Necator americanus* DANS LE BÉRIBÉRI

Lorsqu'on pénètre dans les hôpitaux d'indigènes en Cochinchine et dans plusieurs colonies de l'Extrême-Orient, on est frappé de voir un grand nombre de malades atteints d'affections disparates, de cause très mal définie, pour la plupart de longue durée et rebelles aux divers traitements : ce sont des porteurs d'ulcères atoniques aux membres inférieurs, qu'on désigne en Indo-Chine sous le nom d'*ulcères annamites*, des porteurs d'éruptions lichénoïdes et prurigineuses sur la partie inférieure du corps, confondues souvent avec la véritable gale, des malades atteints de faiblesse générale sans anémie appréciable, de douleurs dans les muscles, d'anémie non paludéenne, et enfin de *béribéri*. Aucun lien étiologique ne semble réunir tous ces symptômes variés ; mais en examinant les selles de chacun des malades, on y trouve, en nombre variable et avec plus ou moins de facilité, à côté des œufs de divers helminthes, les œufs de *Necator americanus*. L'administration de thymol à ces divers individus permet de retrouver le parasite adulte dans les matières fécales.

J'ai signalé en 1906 la fréquence remarquable de ce Nématode dans le tube digestif des sujets atteints de béribéri en Cochinchine¹. Dans une première série d'examen, sur 77 individus atteints de béribéri, 74 furent reconnus porteurs d'*U. americana* (*N. americanus*) Stiles.

En poursuivant ces recherches sur une plus grande échelle, je suis arrivé à reconnaître que la théorie helminthiasique du

1. F. Noc, C. R. Ac. des Sc., 28 mai 1906.

béribéri méritait une étude attentive, malgré les objections qui l'avaient fait écarter autrefois.

Du 1^{er} janvier 1906 au 1^{er} avril 1907, j'ai examiné 211 Chinois ou Annamites atteints des diverses manifestations du béribéri : j'ai observé 197 fois les œufs de *N. americanus*, 4 fois seulement en concomitance avec ceux d'*U. duodenalis*. Chez 14 individus, l'examen des selles, bien que répété, est resté négatif¹.

J'ai pu contrôler ces diagnostics dans 84 cas par la recherche des vers dans les selles, après expulsion par le thymol; je les ai retrouvés d'autre part dans 19 autopsies de béribériques. J'ai ainsi examiné 2.326 Ankylostomes provenant de cette catégorie de malades : 8 fois seulement j'ai retrouvé *U. duodenalis*. La plupart des autres Ankylostomes présentaient les caractères de *N. americanus*.

Voici ces caractères différentiels qui concordent avec les caractères décrits par Stiles² ou par von Linstow³ :

Corps cylindrique, un peu plus ténu en avant. Capsule buccale munie d'une paire ventrale de plaques ou lèvres semi-lunaires et d'une paire dorsale de lèvres semblables; dent médiane dorsale en forme de pointe conique saillante dans la cavité buccale (type Monodontus); une paire de lancettes dorsales effilées, souvent en forme de crochets et une paire ventrale de lames triangulaires, submédianes, situées au fond de la capsule buccale. Quelques exemplaires présentent en outre, mais rarement, deux petites dents sur le bord libre de la paroi ventrale, en avant des lancettes ventrales.

Le mâle mesure 8 millimètres de long. La bourse caudale comprend un lobe dorso-médian court, qui semble souvent divisé en deux et des lobes latéraux saillants réunis par un lobe ventral indistinct. Les côtes dorsales et dorsolatérales ont une base très courte; la côte dorsale est divisée à sa base en deux branches qui s'avancent en divergeant et dont l'extrémité est subdivisée en deux digitations.

On trouve des exemplaires mâles de 6 à 7 millimètres (semblable observation faite par von Linstow).

La femelle, longue de 11 à 12 millimètres; a la vulve située dans

1. Sur ces 211 malades, 27 seulement étaient porteurs des œufs du Trichocéphale et 61 de ceux de l'*Ascaris lombricoïde*.

2. Ch. W. STILES, *Report upon the prevalence and geographic distribution of hookworm disease in the United States*, Washington, 1903.

3. VON LINSTOW, *Centralbl. f. Bakter. Parasit., Orig.*, XLIII Bd., Heft 1, p. 89.

la moitié antérieure du corps, mais au voisinage de l'équateur. L'extrémité postérieure effilée ne porte pas de mucron aigu.

J'ai trouvé, pour les dimensions des œufs ellipsoïdaux, de 68 à 76 μ de long sur 40 à 46 μ de large. *Stiles* donne, pour les exemplaires d'Amérique, de 64 à 76 de long sur 36 à 40 de large. *Von Linstow* a noté, chez les spécimens de chimpanzé, 65 μ sur 46 μ dans l'utérus.

*Ces œufs ne contiennent jamais un embryon développé au moment de la ponte, mais le développement de l'œuf est très rapide et il est fréquent de voir des embryons libres quelques heures après l'émission des selles*¹.

L'enkystement des larves se fait très rapidement sous le climat de Cochinchine. Au mois de mai, lorsque la température se maintient à 29-30° nuit et jour, on peut observer des larves immobiles, à cuticule très épaisse, le 4^e jour après la mise en culture. La contamination peut donc être très rapide. J'ai retrouvé les mêmes larves enkystées dans la boue desséchée qui entoure les latrines des prisonniers à la prison de Giadinh où le béribéri est endémique.

PREMIÈRE OBJECTION A L'HYPOTHÈSE ANKYLOSTOMIASIQUE. — *N. americanus* étant de beaucoup l'espèce la plus répandue parmi les helminthes et les Ankylostomes que l'on peut observer chez les béribériques en Cochinchine, on doit se demander s'il intervient, et dans quelle mesure, dans la genèse du béribéri.

La principale objection que l'on ait faite à l'hypothèse ankylostomiasique repose sur la fréquence des parasites intestinaux chez la plupart des individus sains ou malades aux pays chauds. Si l'on examine la population des districts où sévit le béribéri, dit *P. Manson*, on s'aperçoit bientôt que 50 0/0 des indigènes pris au hasard, et parfois même la population tout entière, hébergent des Filaires, des Ankylostomes, des Trichocéphales. On a beaucoup exagéré la portée de cette objection. Il est vrai que tous les porteurs d'Ankylostomes ne présentent pas des symptômes morbides; tous les ankylostomés d'Europe ne sont pas atteints d'anémie: on admet néanmoins que l'Ankylostome européen est la cause déterminante de l'anémie des mineurs,

1. *N. americanus* paraît être de beaucoup l'espèce la plus répandue sous les tropiques. Il est commun aux Philippines et constitue l'ancien Ankylostome duodéal du Brésil et de l'Amérique centrale.

tandis que la résistance individuelle et la ration alimentaire règlent l'intensité de cette anémie.

On ne saurait faire d'ailleurs de l'Ankylostome un vulgaire commensal de l'indigène, et si l'on veut se rendre compte des rapports qui existent entre le parasite et le béribéri, il importe de déterminer les conditions exactes dans lesquelles vivent les sujets : les uns habitent des locaux contaminés, les autres sont dans le voisinage du foyer infecté, d'autres sont disséminés aux environs, dans des familles indemnes, d'autres enfin ne se rattachent à aucun groupement où sévisse le béribéri.

En suivant cette méthode et en classant les individus suivant leur provenance, j'ai pu me rendre compte, par l'examen microscopique des selles de plus de 600 sujets chinois ou annamites et de 200 Européens indemnes de béribéri, que l'ankylostomiasse est *inégalement* répartie en Cochinchine et que sa répartition est en correspondance avec celle du béribéri.

Les conclusions qui découlent de ces investigations sont les suivantes : 1° Présence presque constante de *N. americanus* chez 211 sujets atteints de béribéri en Cochinchine (93,36 p. 100);

2° Très grande fréquence de *N. a.* chez les individus (271 sujets examinés) vivant dans les agglomérations où sévit le béribéri (64,9 0/0). Il n'est d'ailleurs pas rare, dans ces milieux, de voir un individu considéré comme simple ankylostomé conduit à l'hôpital 24 heures après pour béribéri;

3° Fréquence moindre de *N. a.* dans les milieux (222 sujets examinés) où le béribéri ne sévit que sous forme de cas isolés (34, 5 0/0);

4° Diminution notable de *N. a.* dans les familles où le béribéri est plus rare ou chez les individus voyageurs (112 sujets examinés, 18,7 0/0);

5° Rareté ou absence de *N. a.* chez les Européens rarement touchés par le béribéri (200 sujets examinés, 1 cas d'ankylostomiasse).

DEUXIÈME OBJECTION A L'HYPOTHÈSE ANKYLOSTOMIASIQUE. — « L'ankylostomiasse, dit-on encore, si fréquente dans les milieux où sévit le béribéri, prépare le terrain à ce dernier en affaiblissant l'organisme. » Semblable objection suppose une différenciation facile entre les symptômes d'ankylostomiasse et ceux de béribéri. Or

les premiers, surtout dans la race jaune, n'ont pas toujours été décrits avec précision : jusqu'à ces dernières années on différenciait mal l'anémie due à la malaria, au kala-azar ou à l'ankylostomiase ; les caractères même de cette dernière subissent des variations suivant chaque latitude.

Les signes qui permettent de séparer les deux maladies, béribéri et ankylostomiase, sont en effet peu nombreux : ce sont d'une part l'anémie croissante, la géophagie et la perversion du goût, la diarrhée, la présence du sang dans les selles pour l'ankylostomiase, d'autre part la parésie et l'anesthésie, la fréquence de la mort subite pour le béribéri. Les autres signes, œdèmes, bouffissure de la face, douleur épigastrique, dyspnée, souffles cardiaques, fourmillements et même hydropisie ou anasarque sont fréquemment observés dans le béribéri et l'ankylostomiase¹. Or, en cherchant les premiers de ces symptômes chez les ankylostomés d'Indo-Chine, j'ai dû constater qu'ils manquaient le plus souvent, pour faire place aux symptômes nerveux du béribéri. Voici les observations que j'ai faites sur chacun d'eux :

1^o *Anémie*. — Chez les Chinois et les Annamites porteurs de *N. americanus*, on n'observe pas une véritable anémie : il y a généralement un léger degré d'hypochromie et d'hypoglobulie. Les cas d'anémie grave chez l'indigène relèvent presque toujours du paludisme. Il est par suite nécessaire, dans l'étude de l'anémie ankylostomiasique, de s'adresser à des agglomérations indemnes de paludisme, ou d'éliminer soigneusement, par la recherche des hématozoaires, les sujets infectés. C'est ainsi qu'à la prison de Giadinh, près de Saïgon, sur 87 prisonniers annamites, tous porteurs des œufs de *N. americanus* en grande quantité et indemnes de paludisme, je n'ai pas observé d'anémie notable. Sur 22 miliciens affectés au service de la même localité, je n'ai observé qu'un seul cas d'anémie avec œdèmes, encore le taux de l'hémoglobine atteignait-il 80 0/0.

Lorsque l'ankylostomiase s'aggrave, on observe rarement l'abaissement de l'hémoglobine à 45, 27, 17 0/0, que l'on rencontre habituellement dans l'ankylostomiase grave d'Europe. Voici les résultats que j'ai obtenus, en dosant le taux de l'hémo-

1. De nombreux cas de béribéri œdémateux seraient considérés comme cas d'ankylostomiase en Europe ou en Amérique :

globine par le procédé de Gowers-Sahli, chez 24 individus atteints de béribéri et, parallèlement, chez 21 malades atteints de diverses formes d'ankylostomiasse :

Taux moyen de l'hémoglobine.

Dans le béribéri.		Dans l'ankylostomiasse simple.	
79.85 0/0	{ B. œdémateux 76.80 0/0.	68.74 0/0	{ Anémie 73.3 0/0.
	{ B. paralytique 81.50 0/0.		{ Ulcères chroniques 74.58 0/0.
	{ B. mixte 81.25 0/0.		{ Anémie et complications 58.33 0/0.

Comme on le voit, les différences en hémoglobine qui séparent le béribéri de l'ankylostomiasse proprement dite ne sont pas très accusées et il est difficile de trouver, dans le symptôme anémie, un critérium entre les deux affections. Il n'est pas rare d'ailleurs de rencontrer une anémie grave chez des sujets ayant eu des crises répétées de béribéri et de voir l'hémoglobine s'abaisser dans ces cas à 70 0/0 et au-dessous.

Ces observations ne sont pas spéciales à l'Indo-Chine. On avait déjà remarqué que, dans les races colorées, l'ankylostomiasse ne détermine pas toujours de l'anémie. Aux États-Unis et à Porto-Rico, l'anémie ankylostomiasique frappe plus sévèrement les blancs que les noirs ¹. A Porto-Rico, une forme de la maladie, appelée « Hermosura », est caractérisée par de la fièvre, de l'anasarque sans anémie et est suivie d'une mort rapide ². Aux Philippines, l'ankylostomiasse causée par *Necator americanus* est très répandue et ne détermine pas fréquemment de l'anémie ³.

2^o *Géophagie*. — La géophagie paraît manquer chez les ankylostomés de Cochinchine. J'ai interrogé sur ce point un grand nombre d'indigènes de diverses régions sans obtenir de résultats positifs. Il est à noter toutefois que dans certains villages de la frontière siamoise (communication orale de mon camarade et ami le docteur N. Bernard), les indigènes mangent une sorte de terre friable et agréable au goût et que tous les Indo-Chinois, mâchant le bétel, avalent ainsi de petites quantités de chaux, mais ces habitudes, nullement en rapport avec

1. CH. W. STILES (*loc. citato*).

2. *Report on Anæmia in Porto-Rico*, Commission de l'anémie, 1906-1907

3. C. L. COLE, *Philipp. Journ. of Science*, Méd. sc., vol. II, n° 4, 1907.

la présence des Ankylostomes, ne sont pas plus développées chez les malades que chez les individus résistants.

3° *Diarrhée*. La diarrhée est considérée comme un signe distinctif entre l'ankylostomiase et le béribéri. Or rien n'est plus variable que les troubles intestinaux chez les porteurs d'Ankylostomes. Ces sujets sont fréquemment infectés par d'autres parasites (Amibes, Lamblies, Ascarides, Trichocéphales, Douves), qui peuvent provoquer des troubles variés, notamment de la diarrhée, dont le point de départ n'a pas été élucidé jusqu'ici et qui a été mise au compte de l'Ankylostome.

Sur plus de 200 sujets, atteints de béribéri ou simples porteurs d'Ankylostomes, je n'ai pas noté de tendance plus grande à la diarrhée ou à la constipation. Le béribéri s'accompagne quelquefois de dysenterie amibienne, ou de diarrhée chronique, mais celle-ci n'est un signe particulier ni en faveur du béribéri ni en faveur de l'ankylostomiase.

4° *Mælena*. — On considère comme un signe capital de l'ankylostomiase la présence d'une assez grande quantité de sang dans les selles, signe qui manquerait dans le béribéri. Or, chez les ankylostomiasiques de Cochinchine, la recherche du sang dans les selles par le procédé au buvard, de *Stiles*, donne des résultats négatifs. A l'autopsie des individus ayant succombé avec des Ankylostomes dans l'intestin, on trouve, dans le mucus intestinal et dans le chyme, de petites concrétions de matière noirâtre qui sont le résultat de la digestion du sang par les Ankylostomes, mais jamais en grande quantité. La Commission de l'anémie à Porto-Rico a fait des constatations analogues : il ne semble pas que l'anémie provoquée par *N. americanus* chez les blancs de Porto-Rico soit due à la perte de sang infligée par les vers, car on trouve rarement des globules rouges en quantité appréciable à l'examen des selles¹. J'ai constaté d'ailleurs, sur de nombreux exemplaires de *N. americanus* recueillis vivants et observés *in vitro*, que ce ver absorbe les globules rouges. Ces derniers subissent dans la capsule buccale un rapide mouvement de flux et de reflux et, tandis qu'une partie pénètre dans l'œsophage, une autre est rejetée au dehors : dans le cas où l'helminthe est fixé à la muqueuse, la plaie résorbe donc un mélange de sang altéré et de sécrétion salivaire du

1. *Report on Anæmia in Porto Rico, 1906-1907.*

parasite. Ces conditions favorisent la pénétration d'une « hémotoxine » dans l'organisme et s'opposent à l'écoulement d'une grande quantité de sang dans l'intestin grêle. Il est à noter d'ailleurs que les Ankylostomes trouvés chez les Asiatiques sont en nombre peu élevé et dépassent rarement les chiffres de 200 et 350.

En résumé, on ne saurait caractériser l'ankylostomiasé d'Indo-Chine par les signes habituellement décrits dans la même maladie chez l'Européen. En effet, lorsqu'on se trouve en présence d'œdèmes, d'hydropisie, de faiblesse générale chez les porteurs de *N. americanus*, on est obligé de constater que ces symptômes ne s'accompagnent pas de l'anémie, mais de troubles nerveux plus ou moins apparents qui sont ceux du béribéri.

5° *Symptômes nerveux*. — Les signes de début de l'ankylostomiasé qu'on observe communément en Indo-Chine sont, en outre des œdèmes fugaces, l'anesthésie prétibiale, les douleurs dans les genoux, les fourmillements, la paresse des réflexes des membres inférieurs, la douleur au creux épigastrique, signes qui passent souvent inaperçus si l'on n'interroge pas soigneusement les malades. L'existence de ces signes montre que le béribéri n'éclate jamais brusquement, mais après une période prémonitoire qui est une période d'ankylostomiasé proprement dite. En effet ces symptômes nerveux de « petit béribéri », comme on les appelle quelquefois, ne font pas défaut dans l'anémie des mineurs et dans l'ankylostomiasé tropicale. *Riembault*¹ a signalé l'hyperesthésie et l'hypalgésie chez les ankylostomiasés. *Boycott*² a observé en Angleterre l'anesthésie prétibiale; *Masius*³, en Belgique, l'incoordination des mouvements volontaires. D'après *Sandwith*⁴, le réflexe rotulien a été trouvé aboli, dans l'ankylostomiasé d'Egypte, dans 48 0/0 des cas, augmenté dans 12 0/0, diminué dans 5 0/0. D'ailleurs, dans la plupart des cas, il n'a pas été fait de recherche systématique du côté du système nerveux.

L'absence d'anémie, en regard de ces troubles nerveux, donne à l'intoxication une allure spéciale et l'on voit apparaître rapidement les symptômes graves, dyspnée, impotence des

1. RIEMBAULT, cité in CALMETTE ET BRETON, *L'ankylostomiasé*, Paris, 1905.

2. BOYCOTT and HALDANE, *Journ. of Hyg.*, 1903, p. 107.

3. MASIUS ET FRANCOTTE, *Bull. ac. de Belgique*, 35, XIX, 1885.

4. SANDWITH, Congrès méd. internat., Rome, 1894.

membres inférieurs, anasarque, mort subite qui caractérisent le bérubéri aigu et ne se rencontrent que très tardivement dans l'anémie ankylostomiasique. Il y a là un passage fréquent des petits signes d'ankylostomiasie à ceux du bérubéri, qui semble indiquer chez les indigènes une diminution de leur résistance au poison des Ankylostomes.

En résumé, N. americanus est un parasite extrêmement répandu chez les Asiatiques en Cochinchine.

Sa fréquence est en rapport étroit avec la fréquence des éruptions cutanées, des plaies lentes à guérir, de la faiblesse générale, signes qui accompagnent habituellement l'ankylostomiasie et surtout avec la fréquence des symptômes de bérubéri.

L'étude comparée de l'ankylostomiasie et du bérubéri montre que le tableau clinique de la première varie suivant les pays et que pour l'Indo-Chine en particulier, les signes habituels de l'ankylostomiasie cèdent la place aux signes du bérubéri chez les porteurs d'Ankylostomes.

La fréquence avec laquelle apparaissent les paralysies et les anesthésies chez les indigènes permet de supposer une diminution de la résistance des Asiatiques vis-à-vis de l'intoxication par les Ankylostomes.

II

RÉSISTANCE DES INDIGÈNES DANS L'ANKYLOSTOMIASIE ET LE BÉRUBÉRI

Étude de la formule leucocytaire.

La fréquence des troubles nerveux chez les Asiatiques infectés par *N. americanus* semble relever, chez ces malades, d'une diminution de la résistance vis-à-vis des sécrétions des Ankylostomes. Cette hypothèse trouve un appui dans le fait que la ration alimentaire des Annamites, et en particulier des prisonniers si souvent sujets au bérubéri, est défectueuse et surtout pauvre en graisse et en matières azotées. La ration des prisons d'Indo-Chine comprend, d'une façon générale, 900 grammes de riz et 225 grammes de poisson salé. Si on la compare avec la ration d'entretien admise par les physiologistes, on a le tableau suivant:

RATION D'ENTRETIEN POUR 24 H.		RATION DES PRISONS D'INDO-CHINE ¹ .	
Principes minéraux.....	32 gr.	Principes minéraux.....	32,97
Subst. albuminoïdes.....	418 —	Subst. albuminoïdes.....	102,54
Graisses.....	56 —	Graisses.....	20,47
Hydrocarbonés.....	500 —	Hydrocarbonés.....	689,04

Il y a donc dans le régime des prisonniers annamites un déficit en azotés et en graisse, un excès d'hydrocarbonés. Or, on a remarqué depuis longtemps que le béribéri frappe surtout les individus mal nourris et que ses symptômes s'atténuent lorsqu'on améliore le régime alimentaire; on a vu de même que l'anémie ankylostomiasique frappe les populations pauvres et respecte les agglomérations où la nourriture est riche et variée. Ces constatations importantes m'ont conduit à rechercher si une alimentation presque exclusivement amylacée n'affaiblissait pas la résistance des cellules défensives de l'organisme et, en particulier, si la sensibilité des individus mal nourris au poison des Ankylostomes n'était pas en rapport avec une formule leucocytaire insuffisante.

J'ai eu l'occasion d'étudier la formule leucocytaire de nombreux prisonniers chez lesquels a éclaté en 1907, à Giadinh près de Saïgon, une épidémie de béribéri. L'agglomération indigène de la prison était ainsi constituée :

1^o Cent prisonniers occupés aux travaux de routes et jardins, prenant leurs repas en commun et logés par groupes de 30 à 40;

2^o Une vingtaine de miliciens mêlés aux travaux des prisonniers, allant comme eux pieds nus dans des conditions semblables de malpropreté, vivant en commun dans des cases ou paillottes.

La base de l'alimentation de ces deux groupes d'Annamites consistait en riz et poisson salé; les miliciens avaient la faculté d'y ajouter des fruits, un peu de viande de porc ou de la volaille: ils variaient ainsi leur alimentation et l'enrichissaient en graisse et en aliments azotés.

Sur 100 prisonniers, 87 furent reconnus porteurs de *N. americanus*. Je n'ai constaté qu'une fois les œufs de *U. duodenalis*. Tous les miliciens furent trouvés également infectés par *N. americanus* (janvier 1907).

L'épidémie éclata le 15 février, trois ou quatre jours après une

1. GAYET, *Arch. de méd. navale*, t. XLII, p. 161.

pluie hâtive et inaccoutumée en cette saison. Les symptômes observés consistèrent surtout en fourmillements dans les membres inférieurs, œdème pré tibial, paralysie avec anesthésie de tout le segment inférieur du corps, abolition des réflexes rotuliens, douleur épigastrique, sensation de froid autour des lèvres, morts soudaines, etc. Du 15 février au 30 mars, j'ai constaté à leur début 33 cas de bérubéri chez les 87 prisonniers infectés. Chez les 13 prisonniers non infectés par *N. americanus* aucun cas de bérubéri ne fut constaté. Enfin les miliciens échappèrent aussi au bérubéri : j'ai relevé seulement chez eux quelques légers œdèmes n'ayant pas interrompu le travail.

Vingt prisonniers, parmi ceux qui contractèrent le bérubéri, et 37 qui y échappèrent ont pu être examinés au point de vue de la formule leucocytaire avant et pendant l'épidémie comparativement avec 22 miliciens restés indemnes. Le tableau suivant donne la formule leucocytaire moyenne de ces trois groupes d'individus avant et pendant l'épidémie du bérubéri.

	Miliciens restés indemnes.		Prisonniers restés indemnes.		Prisonniers ayant pris le bérubéri.	
	Avant l'épidémie	Pendant l'épidémie	Avant l'épidémie.	Pendant l'épidémie.	Avant l'épidémie.	Pendant l'épidémie
Poly. n.	43,7 %	46 8 %	50,35 %	50,12 %	50,375 %	50,55 %
Mono ...	4,2 —	4,0 —	4,6 —	5,24 —	4,3 —	5,45 —
Lympho.	32,3 —	32,3 —	32,2 —	31,79 —	33,3 —	35,4 —
Eosino ..	17,8 —	16,9 —	12,85 —	13,35 —	12,025 —	8,60 —

On voit par ce tableau que :

1° La formule leucocytaire générale des ankylostomés d'Indo-Chine ne diffère pas sensiblement de celle du bérubéri;

2° Il y a dans tous les cas une éosinophilie caractéristique; mais, tandis que chez les miliciens, mieux nourris que les prisonniers, cette éosinophilie est égale à celle qu'on observe habituellement en Europe ou en Amérique dans l'ankylostomiase (environ 18 0/0), chez les prisonniers qui vivent de riz et de poisson salé, elle est beaucoup moins élevée. La différence qu'on observe ici entre les miliciens et les prisonniers ne relève

évidemment que de l'alimentation, toutes les autres conditions étant égales.

3° Les miliciens sont restés indemnes de béribéri et leur formule leucocytaire est restée la même avant et pendant l'épidémie; chez les prisonniers qui ont contracté le béribéri, le chiffre des éosinophiles s'est encore abaissé, alors qu'il se maintenait au même niveau chez ceux qui ont résisté.

On sait, depuis les recherches de *Boycott*¹, de *Liermberger*², de *Stiles*³, de *Malvoz*⁴, d'*Honoré*⁵, de *Lambinet*⁶, etc., que le taux des éosinophiles, chez les porteurs d'*Ankylostomes* de race blanche, s'exagère lorsque l'état des individus infectés s'améliore sensiblement et que ce chiffre élevé persiste parfois longtemps après la guérison. Au contraire, lorsque l'état du malade s'aggrave, le taux des éosinophiles s'abaisse notablement. Il y a donc ici encore identité de réaction entre le béribéri et l'ankylostomiasse grave;

4° En aucun cas le nombre des polynucléaires neutrophiles ne s'est trouvé augmenté, ce qui fait supposer qu'il n'y eut pas intervention d'un agent de nature bactérienne;

5° Comme dans l'ankylostomiasse grave, le taux des grands mononucléaires et celui des lymphocytes sont légèrement augmentés pendant la crise de béribéri.

En résumé il y a, chez les prisonniers soumis à un régime presque exclusivement amylicé, un affaiblissement de la résistance leucocytaire vis-à-vis des sécrétions des *Ankylostomes*; cette résistance est encore diminuée au moment de l'apparition du béribéri.

Ce dernier fait est rendu encore plus évident si l'on groupe les malades suivant la gravité de leurs cas. J'ai noté dans les tableaux suivants les faits particuliers qui compliquaient la maladie dans les 33 cas observés à Giadinh, la formule leucocytaire étant notée chez ces 33 malades au moment de l'apparition du béribéri.

1. *BOYCOTT A.-E. and HALDANE J. S., Journ. of Hyg. Cambridge, III, 95-136, 1903.*

2. *LIERMBERGER, Berl. Klin. Woch., 1905, n° 14, p. 387.*

3. *STILES Ch.-W., Brooklyn M.-J. 17, 1903.*

4. *MALVOZ, Scalpel, Liège, 5 juillet 1903.*

5. *HONORÉ, Arch. intern. de pharmacodynamie, 1904, p. 383.*

6. *LAMBINET et GOFFIN, Bull. r. de Belgique, 30 avril 1904.*

I. — CAS DE BÉRIBÉRI A FORME BÉNIGNE

SIGNES CLINIQUES	Nos de l'observation.	P. neutro o/o.	Grands mono o/o.	Lympho o/o.	Eosinoph. o/o.	FAITS particuliers.
Fourmillements, parésie.....	7	50	6	33	11	Amibiase et diarrhée.
Béribéri œdémateux.....	21	67	4	20	9	
—	23	45	13	22.5	19.5	
B. paralytique	26	46.4	2	40	11.6	Lombricose.
Anesthésies, parésie.....	29	45	3	35	17	Trichocéphales.
Fourmillements, anesthésie....	30	47	4	39	10	Amibiase intestinale.
Béribéri œdémateux.....	31	54	3	30	13	
—	33	43	5	40	12	
—	35	49	11	32	8	
Anesthésie et œdème.....	37	51	3	34	12	
Moyenne.....	»	49.74	5.4	32.55	12.31	

II. — CAS DE BÉRIBÉRI A MARCHÉ CHRONIQUE

SIGNES CLINIQUES	Nos de l'observation.	P. neutro o/o.	Grands mono o/o.	Lympho o/o.	Eosinoph. o/o.	FAITS particuliers
B. paralytique	6	61.5	3	30	5.5	Trichocéphales, Distomes.
B. œdémateux	12	38	16	37	9	Anémie, hématies nucléées, lombricose.
B. paralytique	25	39.5	7.5	43	10	
—	28	62.5	6	27	4.5	
B. œdémateux	32	46	4	48	2	
B. paralytique	48	52	11.5	24	12.5	
Moyenne.....	»	49.92	8	34.83	7.25	

III. — CAS DE BÉRI-BÉRI GRAVE, HOSPITALISÉS, NON MORTELS

SIGNES CLINIQUES	N ^o de l'observation.	P. neutro. 0/0.	G. mono. 0/0.	Lympho. 0/0.	Eosinoph.	FAITS particuliers.
B. paralytique.	4	47.	7	40	6	Hématies nucléées.
—	10	69.	2	24	5	
—	13	53.5	3	33.5	5	
B. mixte.....	16	44	4	40	21	
B. œdémateux.	20	56	4	35	5	
B. mixte.....	22	33	6	48	31	Hématies nucléées.
B. œdémateux.	24	45.5	2.5	40	12	
B. paralytique.	34	46	5.5	41.5	7	
B. mixte.....	35	43.5	18.5	35.5	2.5	
B. paralytique.	38	44	2	50	4	
Moyenne.....	»	48.65	5.45	38.75	7.15	

IV. — CAS DE BÉRI-BÉRI TERMINÉS PAR LA MORT.

SIGNES CLINIQUES	N ^o de l'observation.	P. neutro 0/0.	G. mono 0/0.	Lympho 0/0.	Eosinoph. 0/0.	FAITS particuliers.
B. œdémateux.	1	47	4	43	6	Mort 24 h. après l'examen.
B. paralytique.	2	66	3	29	2	Mort 25 j. après.
B. mixte.	3	56	4	34	6	Lombricose, mort 12 jours après.
B. paralytique.	8	51	4	41.5	3.5	Mort 31 j. après.
—	15	51	4	36	9	Mort 46 j. après.
—	17	56	3	33	8	Mort 22 j. après.
—	19	52.5	3	38.5	6	Amibiase, mort 20 jours après.
Moyenne.....		54.21	3.57	36.43	5.69	

On voit ainsi que le taux des éosinophiles tend à se rapprocher de la normale, sans augmentation des polynucléaires neutrophiles, dans les cas d'ankylostomiase compliquée de béribéri mortel.

On obtient des résultats semblables en groupant les malades suivant qu'ils ont des symptômes localisés, ou généralisés : 16 cas de béribéri ayant présenté des signes localisés aux membres inférieurs ont comme formule leucocytaire moyenne

P.	M.	L.	E.
51	— 6,5	— 33,5	— 9 0/0

14 cas ayant présenté des signes généralisés aux membres supérieurs et inférieurs ont comme moyenne :

53	— 4	— 36	— 7 0/0
----	-----	------	---------

Dans la forme paralytique, qui est généralement plus grave et plus tenace que la forme œdémateuse, le taux des éosinophiles est également un peu plus abaissé.

Enfin trois de ces prisonniers atteints de béribéri ont pu être examinés après guérison spontanée, sans expulsion de leurs parasites. Sous l'influence du repos et d'une amélioration dans le régime, leur taux d'éosinophiles est revenu à la normale des simples porteurs d'Ankylostomes. quand le béribéri a rétro-cédé :

	N° 684				N° 695			
Avant la crise.....	57	— 3	— 27,5	— 12,5 0/0	37	— 16,5	— 23,5	— 23 0/0
Pendant la crise...	47	— 4	— 39	— 10 0/0	54	— 3	— 30	— 13 0/0
Après guérison....	45	— 3	— 35	— 18 0/0	35	— 7,5	— 40	— 17 0/0

	N° 3472			
Avant la crise.....	26	— 3	— 44	— 27 0/0
Pendant la crise.....	33	— 6	— 48	— 13 0/0
Après guérison.....	50	— 2	— 30	— 18 0/0

Dans les cas d'origine récente la formule leucocytaire peut se modifier rapidement : le repos de quelques jours à l'hôpital, un changement de régime, une médication cholagogue font remonter, chez certains malades, le taux des éosinophiles en même temps que les symptômes s'atténuent. J'ai examiné le sang d'un grand nombre de sujets provenant des hôpitaux d'indigènes de Cholon, Choquan, et Phu. My. Tous présentaient un taux d'éosinophiles généralement supérieur à la normale, et s'éle-

vant d'autant plus que le malade était depuis longtemps hospitalisé, mieux nourri et que ses membres avaient repris davantage leur aptitude fonctionnelle.

Toutefois, ayant constaté au cours de plusieurs examens histologiques d'intestin que, malgré la présence des Ankylostomes, les éosinophiles faisaient défaut dans la paroi intestinale, j'ai pensé à rechercher si, dans les points particulièrement lésés par l'intoxication, au niveau des membres paralysés par exemple, le taux des éosinophiles n'était pas inférieur à celui du sang de la circulation générale.

Or, à l'examen de 44 cas de béribéri bien caractérisés, j'ai noté que, presque toujours, l'éosinophilie est moins marquée dans le sang des membres paralysés ou œdématiés que dans celui des membres valides. Pareille observation concerne le chiffre des mononucléaires. Dans quelques cas même, les éosinophiles disparaissent totalement de la circulation. *Takasu*¹, au Japon, en examinant le sang de nourrissons atteint de kakké, avait déjà noté un taux d'éosinophiles inférieur à la normale. Ce fait paradoxal semble être un indice de la gravité de l'intoxication par les Ankylostomes. La recherche des éosinophiles dans le béribéri paraît donc devoir servir au pronostic.

J'ai divisé ces 44 malades en 3 catégories :

- 1° Cas de béribéri légers ;
- 2° Cas de béribéri à marche chronique ;
- 3° Cas de béribéri paralytique aigu à forme grave.

La différence en éosinophiles pour chaque membre est surtout marquée dans cette dernière catégorie.

1. TAKASU, cité in JEANSELME, *Le Béribéri*, monographie, Paris, 1906.

I. CAS DE BÉRIBÉRI LÉGER¹.

Noms.	Poly. n.	G. mono.	M. mono	Lymph.	Eos. bil	Eos drit	OBSERVATIONS
C.....	32.22 30.50	7.75 0 »	3.45 4 »	32.22 43 »	24.46 20.50	2 »	Fièvre et anémie, œdème des mem- bres inférieurs.
Ch....	33.50 44.50	7.5 5.5	» »	40 » 33 »	17 » 17 »	» »	Faiblesse générale, œdème des inférieurs.
H.....	42 » 34.5	5 » 5 »	» »	34.50 30 »	13.50 10.5	» »	Œdème de la face et des membres inférieurs.
Ng.....	56.85 66.82	1.05 3.18	3.45 1.36	35.80 24.10	3.45 3.18	» 1 36	B. paralytique.
Sa.....	37.6 32 »	1.2 1.2	1.6 3.6	4.6 51.6	13.6 11.6	» »	—
Su.....	65 » 69 »	4 » 3 »	» »	25 » 25 »	6 » 6 »	» »	B. léger (fourmillements, anesthésie).
Suu...	43 » 44 »	5 » 9 »	» »	40 » 39 »	12 » 8 »	» »	—
V.....	45 » 48 »	3 » 8 »	» »	34 » 27 »	18 » 17 »	» »	—

L'examen des formules qui suivent montre que le taux des grands mononucléaires se maintient peu élevé dans les formes chroniques. Il y a souvent augmentation du chiffre des lymphocytes. Enfin lorsqu'une amélioration survient par le repos, la formule leucocytaire du membre malade tend à se rapprocher de celle du membre sain et le taux des éosinophiles remonte.

1. La première ligne horizontale indique la formule leucocytaire du sang prélevé au doigt, la deuxième celle du sang prélevé au gros orteil.

II. CAS DE BÉRIBÉRI A MARCHÉ CHRONIQUE.

NOMS	Poly. n	G. Mono.	M. Mono.	Lympho.	Eos. bil	Eos. tril.	OBSERVATIONS
B.....	71 »	2 »	1 5	23.5	1.5	0.5	B. paralytique et paludisme.
	68 »	6 »	5 2	19.6	0 »	1.2	
Ch.....	50 »	4 »	»	23 »	23 »	»	B. paralytique (m. infér.).
	29 »	4 »	»	49 »	18 »	»	
Chi....	41 »	4 »	»	41 »	14 »	»	Main droite non paralysée; jambe gauche (paralysie et anesthésie).
	28 »	2 »	»	61 »	9 »	»	
Chu....	31.42	5.74	3.57	47.85	11.42	»	En voie de guérison.
	32.50	1.50	2 »	46 »	18 »	»	
Chum..	44.65	3.25	4.65	35.35	12.10	»	Rechute. Amélioration.
	35.72	4.30	1.42	45.72	11.42	1.42	
C. T...	45 »	3 »	2.5	33.5	14 »	2 »	Amélioration des phéno- mènes parétiques.
	26.32	2.63	4.73	52.64	12.63	1.05	
D.	39 »	7 »	»	43 »	11 »	»	Anesthésie et œdèmes.
	38 »	8 »	»	46 »	8 »	»	
H....	40 »	1.25	3.12	31.88	23.75	»	B. paralytique.
	28.75	6.25	2.50	43.75	15 »	3.75	
I.....	53.07	1.92	3.46	37.70	3.85	»	Parésie des membres infé- rieurs et œdème épigas- trique.
	53.32	0.70	1.33	36.65	8 »	»	
L.....	52 »	2.86	2.58	27.42	13.72	1.42	En voie de guérison.
	42.85	2.15	1.42	37.15	16.43	0 »	
Lg.....	46 »	2 »	»	47 »	5 »	»	Œdème persistant (membres inférieurs).
	46 »	3.5	»	49.5	1 »	»	
Li.....	63 »	4 »	»	23 »	10 »	»	Fourmillements, anesthésie.
	63 »	4 »	»	22 »	11 »	»	
Lô....	57.2	2.8	1.2	31.6	5.6	1.6	Paralysie ancienne des ex- tenseurs.
	44 »	1.2	1.2	48.8	4.4	0.4	
Ly....	54.8	7.2	3.6	23.6	7.2	3.6	Paralysie et œdème.
	47.7	2.3	3.85	32.3	7.7	6.15	
N.	53.52	1.18	2.94	31.76	9.42	1.18	Amélioration.
	56 »	6 »	3.5	22.5	12 »	»	
P.....	83.10	0.68	1.38	13.46	1.38	»	B. paralytique grave. Impo- tence des membres infé- rieurs et supérieurs.
	75.80	2.91	3.40	17.90	6 »	»	
T. A...	40 »	5.38	3.48	48.84	2.30	»	B. paralytique
	38.20	5.45	1.80	53.20	1.35	»	
Th....	64 »	0.70	3.32	22.66	8 »	1.32	B. paralytique
	66.70	1.32	1.32	22.66	8 »	0 »	
Th....	39.14	1.30	5.65	45.21	8.70	0 »	Œdème ayant succédé à la paralysie.
	42.63	1.47	4.21	43.34	7.30	1.05	
T. O...	55 »	3 »	»	27 »	15 »	»	Paralysie (membres infé- rieurs).
	56 »	5 »	»	27 »	12 »	»	
Tr.....	51 »	2 »	1.5	40 »	5.5	»	Paralysie (membres infé- rieurs).
	23 »	1.5	4 »	69 »	2.5	»	
Tu....	48 »	8 »	»	32 »	12 »	»	Paralysie (membres infé- rieurs).
	56.5	5.5	»	26 »	12 »	»	
V.....	24.28	2.38	4.28	51.91	17.15	»	Amélioration.
	37.32	2 »	6 »	44 »	9.34	1.34	
V.....	52 »	5 »	»	24 »	19 »	»	Paralysie des membres supé- rieurs et inférieurs.
	51.5	6 »	»	21 »	21.5	»	
Vi....	63.68	2.10	4.74	27.90	1.58	0 »	Œdèmes (granulations éosi- noph. rares et clairse- mées).
	40.95	2.85	14.30	40.95	0.475	0.175	
X.....	47.82	1.73	7.82	30.90	10.42	1.30	B. paralytique depuis un mois.
	45.17	2.06	4.89	42.04	4.89	0.11	
X.....	45.71	1.42	»	33.57	19.30	»	B. paralytique depuis un mois (améliore).
	32.76	3.90	»	48.90	14.44	»	

III. CAS DE BÉRIBÉRI AIGU GRAVE.

NOMS	P. n.	G.M.	M.M.	L.	E. b.	E. t.	OBSERVATIONS
B.....	63.22 59 »	1.7 1.5	1.7 2 »	30.52 35 »	2.76 2.5	» »	Paralysie et anémie.
C.....	48 » 37 »	6.5 4.5	» »	33.5 53 »	1.3 5.5	» »	Impotence des extrémités inférieures.
D.....	71.40 55 »	7.80 1.70	3.35 1.70	17.75 40.75	0 » 0.85	0 0	Anasarque.
Dg....	43.5 42.5	2 » 1.25	5.5 5 »	39 » 40.625	10 » 10.625	0 0	B. paral. grave et anémie.
Dé....	44 » 32 »	3 » 6 »	» »	45 » 51.5	8 » 40.5	» »	Paralysie complète des membres inférieurs.
L.....	51.27 37.20	0 » 2.30	1.78 3.94	36.30 51.31	1.60 3.28	6.0 1.97	B. paralytique (membres inférieurs).
M.....	40 » 25 »	5 » 6.5	» »	53 » 68 »	2 » 0.5	» »	B. paralytique, hyperesthésie.
W....	69.52 61.36	1.90 3.48	» 5 »	23.34 25.46	3.34 4.10	1.90 0.90	Anasarque.
X.....	28.08 39.16	4.40 1.65	1.82 2.93	50 » 44.16	16 » 10.85	» 1.25	Impotence des membres supérieurs et inférieurs

Comme on le voit, lorsque tout l'organisme participe aux symptômes d'intoxication, il y a baisse générale des neutrophiles et des grands mononucléaires pour les membres supérieurs et inférieurs, les éosinophiles peuvent faire défaut dans la circulation et le taux des lymphocytes est alors augmenté.

Il paraît donc y avoir, dans certains cas de béribéri, une anaphylaxie complète vis-à-vis de l'intoxication ankylostomiasique et l'on est conduit à rechercher, dans l'organisme des individus gravement atteints, les preuves de l'accumulation ou du passage des sécrétions des ankylostomes.

(A suivre.)

A propos de la signification du *Bacillus coli* dans les eaux potables.

ÉTUDE DE CE BACILLE DANS LES EAUX DE TOULOUSE

PAR MM.

D^r GUIRAUD

PROFESSEUR D'HYGIÈNE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE TOULOUSE

ET D^r HENRI MAUDOUX

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Travail fait au laboratoire d'hygiène de la Faculté de médecine de Toulouse.

Les hygiénistes sont restés longtemps divisés sur la signification du *bacillus coli* dans les eaux potables. Après avoir bataillé une dizaine d'années, il ne semble pas que l'accord soit loin de se faire. La plupart, en effet, admettent aujourd'hui avec Freudenreich¹, Petruschy et H. Pusch², Kaiser³, Hagemann⁴, H. Vincent⁵, etc., que le bacille d'Escherich, qu'héberge l'intestin de l'homme et des animaux, n'est pas un hôte banal de l'eau, mais que sa présence ne prend une valeur décisive que lorsqu'il y est constaté en quantité notable. Le facteur quantité représente donc un élément important dans l'appréciation des causes de contaminations. Les recherches⁶ qui se poursuivent depuis plusieurs années au laboratoire d'hygiène de la Faculté de Médecine de Toulouse nous permettent d'apporter notre modeste contribution à cette question.

1. FREUDENREICH, Rech. du *B. coli* dans l'eau *Ann. de micrographie* 1896.

2. PETRUSCHKY et PUSCH, *Bacterium coli als indicator für Fækalverunreinigung von Wassern*, *Zeitschr. f. Hyg.* t. XLIII, fasc. 2..

3. KAISER, Ueber die Bedeutung des *Bacterium coli* im Brumenwasser, *Archiv. f. Hyg.* LII, 1903.

4. HAGEMANN, Zur coli-Frase beider Bemtheilung der Wasserverunreinigung (Viertelj. f. gerichtl. Med. und öffentl. Sanitätswesen, XXIX, 1905).

5. H. VINCENT, Sur la signification du *Bacillus coli* dans les eaux potables, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1905.

6. GUIRAUD, Les eaux potables de la ville de Toulouse au point de vue bactériologique et sanitaire. *Revue d'hygiène*, t. XVI, n° 11, 1894.

H. MAUDOUX, Les eaux d'alimentation de la ville de Toulouse. Leur histoire, leur rôle au point de vue hygiénique, *Thèse Med.* Librairie polytechnique, Paris, 1898.

H. MAUDOUX, Sur la signification du *bacterium coli commune* dans les eaux potables. *C. R.* XXXVII. *Congrès. Soc. savantes*, Toulouse.

A. GAUTRIÉ, Sur la détermination quantitative du coli babilé dans les eaux d'alimentation. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XX, 1903.

1^o Quelques considérations sur la filtration naturelle.

La ville de Toulouse emploie pour son alimentation le système des *galeries dites filtrantes*, installées le long des berges perméables de la Garonne. Ces galeries, faites de briques tubulaires, reçoivent les produits d'infiltration qui s'effectuent à travers les matériaux perméables, graviers, sables, etc., des alluvions anciennement déposées par la rivière. En réalité, elles ne jouent aucun rôle dans la filtration ; elles se bornent à recueillir les eaux préalablement filtrées par le sol. Ce sont donc plutôt des *galeries captantes*.

Une première question se pose, importante pour l'hygiéniste : Quelle est l'origine des eaux qui alimentent ces galeries ? Il semble qu'à Toulouse ce soit un mélange de la nappe phréatique et des infiltrations de la rivière. Le niveau statique de la nappe qui alimente les galeries ne s'éloigne jamais, en effet, des limites des niveaux du fleuve ; et, d'autre part, la comparaison des analyses minérales des eaux de la Garonne, de la nappe et des galeries montre que celle de ces dernières occupe une place intermédiaire. La rencontre des eaux d'origine fluviale avec la nappe phréatique, beaucoup plus minéralisée, détermine la formation d'une zone mixte décomposable en une série de tranches liquides, dont les extrêmes se rapprochent respectivement de la composition du fleuve et de la nappe, et dont les moyennes présentent des caractères intermédiaires. L'équilibre des deux nappes varie suivant les oscillations de leurs niveaux respectifs.

La double origine de l'eau qui alimente les galeries captantes de Toulouse montre tout de suite quelles causes de contamination peuvent provenir à la fois et de la nappe et de la Garonne. Il importe donc de dresser tout d'abord l'état des lieux occupés par les filtres.

Les galeries captantes de Toulouse sont installées sur la rive gauche de la Garonne. Elles sont au nombre de quatre.

La galerie Guibal, la plus ancienne, établie dans l'*enceinte même de la ville* ;

La galerie de Braqueville, qui a remplacé les anciens puits d'essai ;

Les deux galeries de Portet, dont la plus récente est la plus rapprochée du fleuve, en contre-bas de trois mètres avec la précédente.

Les galeries de Braqueville et de Portet sont éloignées de la ville.

Les filtres sont reliés à la canalisation et aux réservoirs par un long aqueduc en maçonnerie. Cet aqueduc recueille aussi les eaux de source de Clairfont, près Braqueville, captées il y a quelques années.

2° Variations quantitatives du colibacille dans les filtres.

On doit tout de suite mettre hors de cause les sources de Clairfont. Nous n'avons jamais pu y déceler le colibacille et, d'autre part, le chiffre des germes qu'elles renferment est peu élevé (50 par centimètre cube). Ces sources, malheureusement trop peu abondantes, sourdent de terrains sablonneux, et on sait que la filtration effectuée par des dépôts de cette nature est des plus satisfaisantes.

Par contre, dans la galerie Guibal, ce microbe pullule en abondance, puisqu'on peut l'isoler de quelques gouttes d'eau. Les causes de l'adultération de cette galerie ont une double origine : elles proviennent et du fleuve et de la nappe phréatique. Les rives de la Garonne sont en effet particulièrement sales en cet endroit. D'une façon périodique, cette portion du lit du fleuve est presque mise à sec. De ces bas-fonds sableux, où séjournent des animaux en putréfaction, se dégage une odeur nauséabonde. Quant à la nappe phréatique¹, elle lave, avant son arrivée à la galerie, le sous-sol d'un faubourg populeux, celui de Saint-Cyprien, où nombreuses sont les causes de contamination. La plupart des maisons de ce quartier ne possèdent que des fosses étanches. Ces dernières ne sont autre chose souvent que d'anciens puits abandonnés. On s'explique ainsi l'abondance du coli dans la galerie ainsi alimentée.

Il n'en est plus de même pour les galeries de Portet et de Braqueville. Le fleuve et la nappe phréatique qui les alimentent ne traversant aucun centre important de population, paraissent être, en temps ordinaire, à l'abri de toute contamination. Toute fois, comme le montrent les recherches effectuées par l'un de nous², pendant les années 1897-98, au laboratoire d'hygiène, ces

1. Dr F. GARRIGOU, *Études sur les filtres et sur l'eau des fontaines de Toulouse*, 1873.

2. HENRI MAUDOUX, *loc. cit.*

filtres sont périodiquement visités par le colibacille. Les variations quantitatives de ce microbe dans les filtres paraissent être en rapport avec les divers niveaux de la rivière, c'est-à-dire en définitive avec la charge sur le radier des galeries. La charge est, en effet, loin d'être constante, par suite des grandes oscillations que subit le niveau du fleuve aux diverses saisons. A certains moments, pendant l'été, les eaux sont très basses ; le débit des galeries est alors très faible, insuffisant même pour alimenter la ville. Dans les périodes de crues, au contraire, les infiltrations deviennent si abondantes, qu'elles envahissent entièrement la galerie et en rendent l'accès impossible.

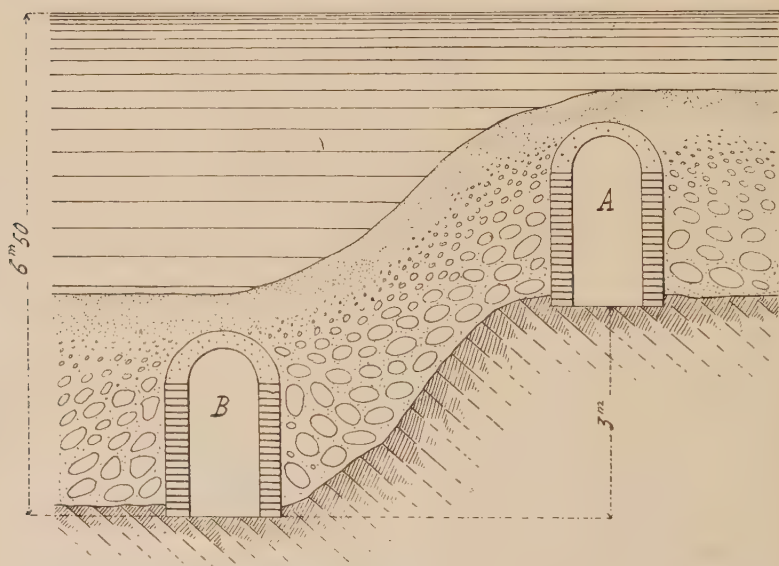


Figure 1. — Diagramme montrant les différences de charge dans les galeries A et B (galeries de Portet à Toulouse). Dans la galerie B où la charge est élevée, le colibacille existe en permanence. Dans la galerie A où la charge est moins grande, le colibacille, absent en période de basses eaux, pullule en période de hautes eaux quand la charge augmente.

Corrélativement à ces oscillations du fleuve, il se produit d'importantes modifications en quantité et en qualité dans la flore bactérienne des produits de filtration. En juillet 1897, par exemple, les eaux du fleuve étant dans leur état moyen (à la cote 139), le colibacille ne put être décelé dans 100 c. c. d'échantillons d'eau prélevée dans les galeries de Braqueville et la galerie ancienne de Portet. Au mois de mai de l'année suivante, les eaux

étant plus élevées (cote 140), le colibacille est décelé dans les échantillons d'eau de Portet, mais pas à Braqueville. Un mois plus tard, la crue ayant augmenté (cote 140,68), le colibacille est constaté dans les filtres de Braqueville. Il semble donc que la filtration se fasse d'une manière plus satisfaisante à Braqueville qu'à Portet ; les analyses quantitatives accusent d'ailleurs 120 à 200 colonies par centimètre cube dans les eaux de Braqueville et de 300 à 900 dans celles de Portet. Toutefois, le fonctionnement de ces filtres est insuffisant puisqu'ils sont incapables de retenir le coli hors des hautes eaux.

Depuis ces premières recherches, des modifications ont été apportées aux filtres, apportant une vérification de ces résultats. A côté de la galerie primitive de Portet, on en a établi une nouvelle plus rapprochée de la rivière et en contre-bas de trois mètres environ avec la première, toutes conditions qui ont eu pour effet d'augmenter la charge et par conséquent le débit. Au lieu de 4,000 m. c. à 5,000 m. c. comme la première, la nouvelle galerie peut donner 10,000 m. c. Mais quel a été le résultat au point de vue de l'épuration ? Les analyses faites au laboratoire d'hygiène, en période des basses eaux, nous ont montré que le colibacille n'existait pas dans la galerie haute, mais qu'il avait pénétré dans la galerie basse.

Donc augmentation de la charge, passage du coli. En période des hautes eaux, le coli existe dans les deux galeries, en abondance même, car on peut l'isoler dans un centimètre cube d'eau. L'abondance du coli est en rapport avec l'intensité de l'infection. Ces observations acquièrent la valeur d'une véritable expérience. Grâce, en effet, à la disposition qu'affectent les deux galeries de Portet, il est possible d'isoler le facteur pression et d'apprécier son influence sur la teneur microbienne des produits de filtration.

Ceci permet d'expliquer les résultats inégaux obtenus avec les galeries captantes. Chaque fois que, dans notre ville, on a voulu augmenter le débit des galeries, la filtration est devenue insuffisante. C'est ce qui est arrivé à d'Aubuisson, le créateur de ces filtres, lorsqu'il voulut recueillir les eaux à l'aide de puits profonds et près de la rivière, à Guibal qui établit sa galerie à 1^m,80 en contre-bas de celles de d'Aubuisson. C'est encore ce qui se produisit lorsqu'on voulut prolonger la galerie Guibal : le niveau de

la nappe ainsi abaissée détermina un appel des eaux du sous-sol du faubourg et ce résultat fut déplorable.

Il se passe donc dans les filtres naturels ce que l'on a observé depuis dans les filtres artificiels, à savoir qu'à l'inverse du débit la quantité de microbes contenue dans les produits de filtration est, toutes choses égales d'ailleurs, fonction de la charge et qu'elle croît ou décroît dans le même sens que cette dernière. L'épuration des eaux ne s'effectue d'une manière satisfaisante dans les galeries de notre ville que lorsque les filtres fonctionnent à *basse pression*.

Remarquons que la charge ne peut être réglée dans les filtres naturels, qu'elle est entièrement livrée aux caprices des cours d'eau. Il existe donc une différence essentielle dans le mode de fonctionnement des galeries filtrantes et des filtres à sable artificiels, qui jouissent actuellement d'une faveur si méritée auprès des hygiénistes. Les premiers, en effet, marchent à *pression variable*, tandis que les seconds sont des appareils à *pression constante*. Or la constance de la charge est un facteur indispensable pour l'obtention d'une bonne filtration. Aussi ne faut-il pas s'étonner si, dans les filtres naturels, cette dernière est moins régulière et moins satisfaisante que dans les filtres artificiels.

3^o *Variations quantitatives du colibacille dans la canalisation.*

Les variations quantitatives du colibacille dans la canalisation apparaissent encore là comme fonction de contamination. L'un de nous (Maudoul, *loc. cit.*), en pratiquant, d'une façon systématique, des analyses de l'eau de la canalisation en divers points, a déjà montré l'existence du coli (dans 100 c. c. d'eau) de l'aqueduc qui amène les eaux des filtres dans la ville. A l'époque où ont été faites ces analyses, le coli n'existait pas dans les filtres; il y avait donc des causes de contamination autres que celles provenant d'une mauvaise filtration; l'enquête établit que cet aqueduc n'était pas étanche et qu'il présentait par endroits des fissures permettant le passage d'infiltrations superficielles. D'où la présence du coli. Or, cette conduite d'aménée traverse une région habitée et l'asile d'aliénés de Braqueville n'en est pas très éloigné. L'égout de l'asile¹ passe au-dessus de cette conduite et, jusque

1. Cet égout, d'après le Dr Dubuisson, directeur de l'asile, serait établi de telle manière qu'il ne pourrait s'y produire de fuites.

dans ces derniers temps même, un dépotoir écoulait ses eaux résiduelles à l'aide d'un aqueduc placé de la même manière. Nombreuses sont donc les causes d'infection de cette conduite. « Dans ces conditions, il est aisé de concevoir qu'elles peuvent être les conséquences de cet état de choses. Qu'une épidémie éclate, en effet, à Braqueville, et les germes seront charriés et répandus dans la ville. (MAUDOUL, *loc. cit.* p. 193).

Or, pendant l'été 1904, une épidémie de fièvre typhoïde éclata à Toulouse, avec des caractères particuliers, affectant une répartition singulièrement suggestive. Elle se manifesta simultanément dans l'asile d'aliénés de Braqueville et dans

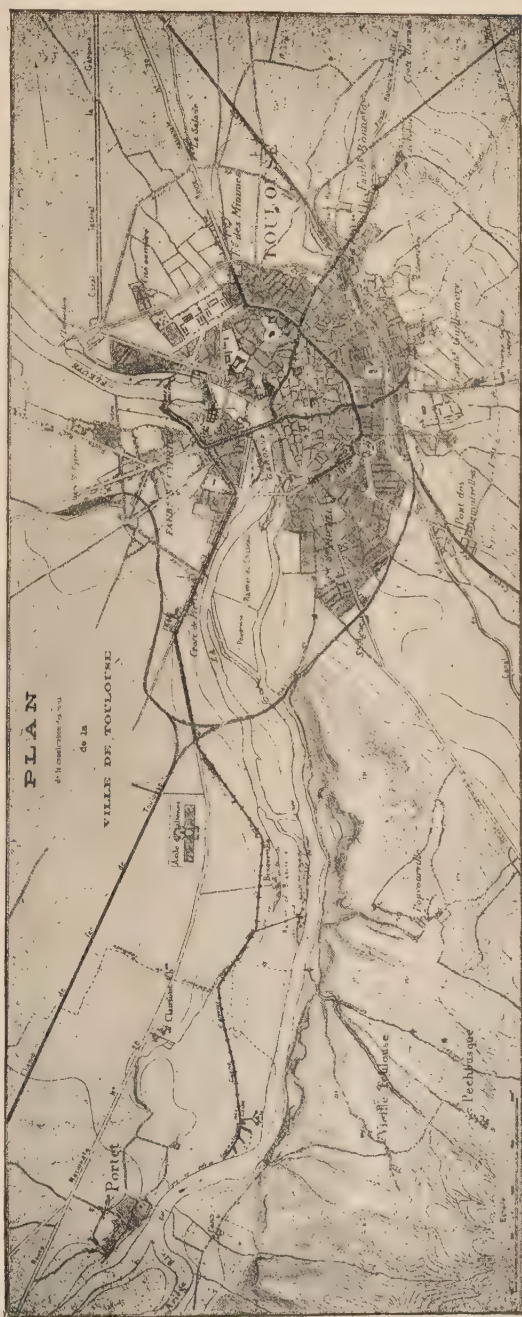


Fig. 2.

l'enceinte même de la ville. Les premiers cas apparurent fin juillet ; à l'asile, une infirmière employée à la buanderie fut tout d'abord frappée.

Vers la même époque, un cas se déclare dans la ville, *rue Matabiau* et un autre au 83^{me} régiment d'infanterie à la caserne Pérignon, située près du réservoir d'eau de Guilheméry (fig. 2). Puis, brusquement, comme cela a lieu d'ordinaire dans les infections d'origine hydrique, 24 cas se produisent en août à l'asile ; la mortalité est de 4, dont deux infirmières. Dans la ville, pendant le même mois, on constate 8 cas à la caserne Pérignon, 2 au 23^{me} régiment d'artillerie, soit 11 cas dans la garnison. Il est plus difficile d'avoir des renseignements sur la morbidité de la population civile, les déclarations ne se faisant pas régulièrement. C'est ainsi que 2 cas sont seulement déclarés, alors que la mortalité en accuse 9. En septembre, la morbidité décroît beaucoup à l'asile, grâce aux mesures prises pour enrayer l'épidémie ; elle tombe à 5, mais la mortalité se maintient encore élevée (4 cas). Dans la ville, un cas se produit à la caserne Pérignon ; un autre au 18^{me} d'artillerie ; enfin, la nouvelle caserne dite caserne Niel où était logé le 126^{me} régiment d'infanterie, située à Saint-Agüe, très éloignée des autres, est à son tour touchée, mais encore faiblement, puisqu'on n'observe qu'un seul cas. Dans la population civile, l'épidémie entre aussi en décroissance ; 4 cas sont déclarés, la mortalité n'est plus que de 2, dont 1 étranger. Au total, la morbidité tombe à 12. En octobre, l'épidémie diminue encore. Trois cas sont signalés à l'asile, la mortalité est de 2. Néanmoins, le chiffre de la morbidité se maintient relativement plus élevé à l'asile que dans la ville. L'épidémie s'éteint d'abord à la caserne Pérignon, là où elle avait débuté. En novembre, elle se termine à Braqueville ; mais elle traîne un peu à Toulouse, où 2 cas se déclarent dans la population civile et 5 dans la garnison, à savoir : 2 cas dans les casernes d'artillerie et 3 à la caserne Niel. Dans la ville, l'épidémie perd son caractère hydrique pour prendre celui d'épidémie par contact, alimentée par des foyers épars.

Cette épidémie a été particulièrement circonscrite ; elle a, en effet, entièrement évolué dans un quartier bien délimité de la ville. Sa répartition est pour ainsi dire calquée sur la disposition des gros troncs de la canalisation. Ceux-ci, en effet, au nombre de

deux, en se dirigeant vers les réservoirs placés en bout de la canalisation, passent l'un *rue Matabiau*, où s'est produit le premier cas dans la population civile, et aboutit au réservoir de Périole ; l'autre se déverse dans le réservoir de Guilheméry, près de la caserne Pérignon où se sont manifestés les premiers cas de la garnison. Ces deux gros troncs principaux sont réunis par une anastomose latérale, alimentant les casernes des 18^e et 23^e régiments d'artillerie, foyers secondaires de l'épidémie. Quant à la caserne Niel, la dernière infectée, elle n'est desservie que par les ramifications les plus périphériques de la canalisation. Il semble donc que les habitants placés à proximité des premiers conduits aient tout d'abord essuyé les effets d'une eau contaminée, et que de là les germes aient été véhiculés en des points plus éloignés. Les conduites qui amènent les eaux aux réservoirs font, en effet, le *service en route*, c'est-à-dire distribuent de l'eau avant leur arrivée aux réservoirs. Ces derniers ne servent pas à emmagasiner seulement l'eau, ce sont, avant tout, des régulateurs de la pression dans la canalisation. Peut-être n'est-il pas inutile de faire remarquer que ces réservoirs sont très mal protégés et que le nombre de germes s'y élève d'une façon considérable (1100 par centimètre cube à Guilheméry, 2,700 à Périole).

A Braqueville on a incriminé le puits de la buanderie. Le Conseil départemental d'Hygiène fut saisi d'une demande d'autorisation du directeur-médecin de l'asile, pour la construction d'un nouveau puits. Il est vraisemblable d'admettre que la contamination du puits de l'asile n'est que l'expression de l'infection de la nappe phréatique. Or, cette dernière a une direction S.E.N.O. Dans sa marche vers le fleuve, après avoir lavé le sous-sol de l'asile, elle coupe la conduite d'amenée des eaux, insuffisamment protégée et a toute facilité de la contaminer ; de là, les germes peuvent être charriés dans la ville. Cette conduite d'eau représenterait ainsi le trait d'union reliant entre eux les deux foyers épidémiques de l'asile et de la ville. Ce n'est là, toutefois, qu'une hypothèse, une enquête de cette nature étant difficile à faire d'une manière complète. Ces faits représentent néanmoins un ensemble de probabilités troublantes. L'épidémie, tant par sa brusque apparition que par son mode de distribution, n'en a pas moins revêtu un cachet hydrique des plus nets. D'ailleurs, le colibacille, généralement peu abondant dans la canalisation (on

doit opérer sur des échantillons de 100 c. c, à 200 c. c. pour l'isoler), s'était considérablement accru pendant l'épidémie, car on pouvait l'isoler dans un centimètre cube d'eau prélevée au robinet du laboratoire. Il est intéressant de noter, à cette occasion, l'importance de la recherche du colibacille dont le témoignage en fait d'infection prend une haute valeur.

CONCLUSIONS

En résumé, de cet ensemble de faits observés depuis nombre d'années à Toulouse, nous pouvons conclure que :

1^o La présence du colibacille dans nos eaux est intimement liée à l'existence de causes de contamination ; son abondance est également en rapport avec l'importance de ces causes. — Le colibacille, incapable de constituer un danger bien grave par lui-même, apparaît plutôt comme un témoin d'infection. Il ne doit donc pas descendre au rang de saprophyte banal, où on le place parfois, et il semble bien être d'origine intestinale. De ce fait, sa recherche et l'étude de ses variations quantitatives dans les eaux potables présentent un grand intérêt au point de vue hygiénique ;

2^o Dans les galeries dites filtrantes, en particulier, les variations quantitatives du colibacille sont fonction de la pression. La filtration ne s'effectue, en effet, d'une manière satisfaisante que lorsque la charge ne dépasse pas certaines limites. D'autre part, la constance de cette dernière, comme on l'a observé depuis, dans les filtres à sable, est un élément indispensable de bonne filtration. Or, tandis, que chez ceux-ci la charge peut être *réglée* et maintenue *constante*, dans les filtres naturels elle est essentiellement *variable* et reste livrée aux caprices des cours d'eaux. L'emploi des galeries captantes doit donc inspirer quelque méfiance à l'hygiéniste, lorsqu'il s'agit de l'alimentation des villes en eau potable

Sur une nouvelle forme de diplocoque.

TETRADIPLOCCUS FILIFORMANS "Lodzensis"

PAR LES D^{rs} S. BARTOSZEWICZ ET J. SCHWARZWASSER

Laboratoire chimico-bactériologique de la ville de Lotz.

Dans les nombreux puits de la ville de Lodz on peut trouver cette forme que nous avons isolée sur les cultures plates de Petri.

Observé dans une goutte de bouillon (chambre humide), il se montre groupé en tétrade de telle manière que les quatre sommets de la figure sont occupés par un diplocoque, en formant un carré régulier ou un rhombe. Très souvent plusieurs tétrades se combinent par deux ou trois, formant des figures semblant irrégulières mais toujours composées de tétrades.

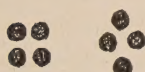


Fig. 1.

Les individus provenant de cultures fraîches possèdent un vif mouvement, principalement autour de l'axe diagonal, avec un faible déplacement progressif.

La coloration, d'après Loeffler, n'a pas démontré l'existence de cils moteurs.

Quelquefois, on peut voir seulement deux ou trois diplocoques quand la tétrade se présente de côté, mais bientôt la forme de tétrade redevient apparente.

Tous ces aspects deviennent encore plus visibles quand on colore avec du bleu de méthylène la culture vivante sur agar et si on l'examine ensuite dans une goutte de bouillon.

Les dimensions des tétrades sont 4-6 μ ; T. F. donne des cultures à la température 14-16° C, mais les meilleurs résultats sont obtenus à l'étuve, à la température de 30-34° C. Sur les plaques de gélatine et à la surface on voit se développer des colonies blanchâtres (gris de perle) ne liquéfiant pas la gélatine.

La culture en bouillon montre, après 18-24 heures, un aspect caractéristique : on aperçoit au milieu du tube un filament très fin et délicat qui monte du fond jusqu'à la surface du bouillon, pour y reprendre la direction vers le fond ; les filaments présentent, après quelques jours, des engourdissements et augmentent en quantité ; ils rappellent l'aspect de filaments de l'urine gonor-

rhéique et ressemblent aussi un peu à la texture des arachnoïdées aquatiques.

Toutes ces observations ont été faites avec les cultures au thermostat 30-34° C. A la température normale de la chambre, les filaments ne se forment point. Après 5-6 jours tous les filaments tombent au fond du tube en formant le sédiment muqueux qui s'étire facilement en fils.



Fig. 2.

Observés au grossissement de 750-800 du microscope, les filaments semblent être composés de tétrades unies par leurs fouets et un peu de matière muqueuse.

Sur l'agar T. F. forme une couverture blanchâtre, brillante. La culture en piqure a l'apparence d'un arbre renversé au milieu de la gélose, et sur la surface on voit la forme d'une marguerite. Sur les plaques de Petri, ils forment de petits boutons couleur gris perle.

Sur la culture piquée en gélatine on ne voit pas aussi bien la forme arborescente à la température de 30°; il se forme aussi, en gélatine liquéfiée, des filaments semblables à ceux déjà décrits qui, après le refroidissement, restent emprisonnés dans la gélatine et peuvent être conservés très longtemps avec leur aspect caractéristique.

Sur le sérum du sang, l'aspect de la culture est le même que sur la gélose.

Sur les pommes de terre la culture ne réussit pas.

Les diplocoques ont le caractère d'aérobie et, dans l'atmosphère de CO², la culture ne réussit pas.

Les expériences faites sur les lapins démontrent que le micro-organisme n'est pas pathogène, qu'on inocule la culture en bouillon dans le sac conjonctival ou sous la peau.

La coloration est facile avec de la fuchsine et du bleu de méthylène; la méthode de Gram réussit bien.

Comme signe différentiel il faut remarquer la formation des filaments en bouillon et en gélatine liquéfiée, qui n'est jamais aussi prononcée dans d'autres formes des bactéries.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire.